Aus dem
Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie
(Direktor: Prof. Dr. med. Bernhard S c h m i d t)
der Freien Universität Berlin

ÜBER DEN WERT DES QUANTITATIVEN NACHWEISES VON SALMONELLAPHAGEN UND EINIGEN DARMBAKTERIEN ALS INDIKATOREN FÜR DAS VORHANDENSEIN VON SALMONELLABAKTERIEN

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans-Henning Ohlrogge
aus Berlin

1970

Aus dem
Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie
(Direktor: Prof. Dr. med. Bernhard S c h m i d t)
der Freien Universität Berlin

ÜBER DEN WERT DES QUANTITATIVEN NACHWEISES VON SALMONELLAPHAGEN UND EINIGEN DARMBAKTERIEN ALS INDIKATOREN FÜR DAS VORHANDENSEIN VON SALMONELLABAKTERIEN

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans-Henning Ohlrogge
aus Berlin

Dekan: Professor Dr.med.Herbert Lax
Referent: Professor Dr.med.Volker Lenk
Korreferent: Professor Dr.med.Bernh.Schmidt

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Promoviert am: 27.Febr.1970

Meinen Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546513_0076

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung und Fragestellung	6
B. Material und Methoden	10
I. Allgemeine Methoden	10
1. Auswahl des Untersuchungsmaterials	10
2. Transport und Aufbewahrung der Proben	11
3. Vorbehandlung der Proben	11
4. Testobjekte und Nährböden	14
II. Spezielle Methodik	15
1. Nachweis von Salmonellen	15
2. Nachweis von Salmonellaphagen	16
3. Nachweis von Coli- und coliformen Keimen	17
4. Nachweis der Enterokokken	18
5. Nachweis von Pseudomonas	19
6. Bestimmung der Gesamtkeimzahl	19
C. Untersuchungsergebnisse	20
1. Vorkommen von Salmonellen	20
2. Vorkommen von Salmonellaphagen	29
3. Vorkommen von Escherichia coli	35
4. Vorkommen von coliformen Keimen und Proteus hauseri	42
5. Vorkommen von D-Streptokokken	48
6. Vorkommen von Pseudomonas aeruginosa	49
7. Gesamtkeimzahlen	51
D. Diskussion	55
E. Zusammenfassung	67
F. Schrifttum	68

A. Einleitung und Fragestellung

In der Vielzahl der heute zum Nachweis pathogener Darmbakterien, speziell der Salmonellen, verwendeten Indikatoren zeigt sich eine gewisse Unsicherheit in der Aussagekraft.

Zwar wird die Herkunft von E.coli, den "Coliformen" sowie den D-Streptokokken (Enterokokken) übereinstimmend auf die Fäkalien bezogen, doch bestehen bei der Bewertung der Befunde erhebliche Meinungsverschiedenheiten.

GUTHOFF und DAMMANN (25) beispielsweise halten die Enterokokken im Vergleich zu E.coli für wenig resistent gegenüber Außenwelteinflüssen. "Der Enterokokkennachweis gestattet also eher ein Urteil über das Alter einer fäkalen Verunreinigung."

Nach Angaben der "International Standards for Drinking Water " (35) sterben die Enterokokken im Wasser etwa ebenso schnell ab wie E.coli, aber u. U. schneller als die coliformen Bakterien. Der Nachweis von Enterokokken neben coliformen Keimen bei gleichzeitigem Fehlen von E.coli könne daher beweisend für eine fäkale Verunreinigung sein.

BURTON (9), MOSSEL (46), SEELIGER (54) sowie SLANETZ und BARTLEY (57) und andere halten die Enterokokken gegenüber E.coli und den Coliformen für die robusteren Nachweiskeime. KELLY und ARCISZ (34) konnten zeigen, daß E.coli u. U. schneller abstirbt als die pathogenen Keime, die angezeigt werden sollen (zitiert bei MOSSEL (47)).

COETZEE (10), MCCOY (41) und G. MÜLLER (48) wiederum sehen eine Überlegenheit des Colinachweises im Vergleich zum Nachweis der Enterokokken. Allerdings gehen die Meinungen über die gleichzeitige Anwesenheit pathogener Keime auseinander.

LENK (37) zitiert mehrere Untersuchungen über die hygienische Beschaffenheit von Badestränden, bei denen Werte zwischen 0 und mehr als 2.400 coliforme Keime pro Milliliter als zulässig gelten.

Untersuchungen auf Pseudomonas werden nach Angaben der WHO nur in Argentinien durchgeführt (37).

Sicher ist, daß mit steigender fäkaler Verunreinigung auch die Wahrscheinlichkeit des Salmonellavorkommens zunimmt. Ein zwingender Zusammenhang besteht aber, wie verschiedene Autoren (COETZEE (10), LENK (36), WOODBURN (63) u. a.) zeigen konnten, durchaus nicht.

Deshalb scheint die Frage nach einem spezifischen Salmonellaindikator gerechtfertigt.
COETZEE (10) schreibt dazu:
"Die Weltgesundheitsorganisation stellt in ihren "International Standards for Drinking Water" fest, daß hinsichtlich der Resultate, die durch Standart- und Analysenmethoden erhalten werden, ein Mangel besteht." Er fährt dann fort: "In Anbetracht der Mängel der heute vorhandenen grundlegenden Kenntnisse enthalten die "Standards" eine Liste von Forschungsthemen auf den Gebieten Wasserqualität und Wasseruntersuchung, deren Inangriffnahme lohnenswert wäre. Eines dieser Themen ist die potentielle Bedeutung der Bakteriophagen als Indikator für Wasserverunreinigungen."

Man weiß seit langem, daß besonders die monovalenten und typenspezifischen Bakteriophagen eine sehr enge Beziehung zu ihrem Wirtsstamm haben.
Nach anfänglichen Fehldeutungen des Phagenvorkommens, die wahrscheinlich auf die Unvollkommenheit der Anreicherungs- und Testmethoden zurückzuführen sind, wurde anerkannt, daß Bakteriophagen als Fäkalindikatoren gelten können (GUELIN (23), HUDEMANN (32)). Aber erst mit den Versuchen, durch Verbesserung der Anreicherungs- und Testmethoden typenspezifische Salmonellaphagen systematisch zu gewinnen, scheint sich die Spezifität ihrer Anzeigefähigkeit so sehr von der der übrigen Indikatoren abzuheben, daß weitere Forschungen auf diesem Gebiete lohnenswert erscheinen.

LENK (36) konnte zeigen, daß Phagenanreicherungen mit Bakteriengemischen und die direkte Anreicherung des unbehandelten Untersuchungsgutes, wie sie Anfang der 30er Jahre von NYBERG (49) und anderen vorgeschlagen worden waren, durch Phageninduktion zum Auftreten neuer Phagen und damit zu einer überhöhten Zahl positiver Befunde führen.
Er wählte für die Anreicherung von Salmonellaphagen ein bakterienfreies Filtrat und die Anreicherungsstämme S.typhi Lysotyp "A", S.typhi O 901 sowie den Vi-positiven Citrobacterstamm Ci4 aus.

Mit der vorliegenden Arbeit soll durch den quantitativen Nachweis von Salmonellaphagen, E.coli, "Coliformen", Enterokokken, Pseudomonas aeruginosa und wenn möglich auch Salmonellen in verschiedenen Substanzen geprüft werden, welche eventuellen Beziehungen zwischen dem Auftreten der obengenannten Keimarten und dem Auftreten der Salmonellen bestehen. Die Enge dieser Beziehungen soll als Maß-

stab für den Wert von Salmonellaindikatoren gelten.

Es wurde besonderer Wert darauf gelegt, nicht die Indikatorbakterien als nur relativen Maßstab heranzuziehen, sondern sich, wenn möglich, am Auftreten der Salmonellen selbst zu orientieren.

B. Material und Methoden

I. Allgemeine Methoden

1. Auswahl des Untersuchungsmaterials

Folgende Proben wurden untersucht:

15 Flußwasserproben

25 Gefriertauwasserproben (aus Gefriergeflügeluntersuchungen des Institutes für Lebensmittelhygiene+)

17 Schlachtkühlwasserproben (aus einer Geflügelschlachterei)

8 Proben Hühnereiwaschflüssigkeit (In Gruppen von je 4-6 Eiern)

21 Eigelbpulverproben

5 Hühnerfederproben

13 Geflügelkotproben

Insgesamt also 104 Proben.

Das Flußwasser wurde ausgewählt, weil es mit großer Wahrscheinlichkeit salmonellahaltig ist. Bei Durchsicht der Literatur fand sich, daß Geflügel, insbesondere brat- bzw. kochfertig eingefrorenes Geflügel, in hohem Maße salmonellapositiv ist (bis zu 50 % (20)). Dieses Material erschien zur Untersuchung besonders geeignet. Als nach 20 Gefriertauwasseruntersuchungen sich dieses als salmonellafrei erwies, wurden zusätzlich die anderen Geflügel- und Geflügelschlachtprodukte in die Untersuchung einbezogen.

+ An dieser Stelle sei nicht versäumt, dem Institut für Lebensmittelhygiene der Freien Universität Berlin für die Überlassung der Gefriertauwasserproben herzlich zu danken.

2. Transport und Aufbewahrung der Proben

Flußwasser, Hühnereier, Federn sowie die Kotproben wurden sofort nach Ankunft im Institut aufgearbeitet.

Die Gefriertauwasserproben erhielten wir vom Institut für Lebensmittelhygiene in gefrorenem Zustand. Sie wurden bis zu ihrer Aufarbeitung tiefgekühlt gehalten.

Die Kühlwasserproben wurden mit sterilen Flaschen in der Schlachterei dem Kühlbecken entnommen und in einem trockeneisgefüllten Spezialbehälter in das Institut transportiert. Wenn eine kurzzeitige Lagerung (2 - 3 Std.) nötig wurde, so erfolgte sie bei + 4°C.

3. Vorbehandlung der Proben

Alle Aufschwemmungen, Waschungen und Verdünnungen wurden mit physiologischer Kochsalz-Lösung (NaCl-Lsg) vorgenommen. Alle Proben wurden in flüssiger Form verarbeitet.

Die Ausgangsmenge der einzelnen Proben schwankte verständlicherweise beträchtlich. Standen beim Fluß- und Schlachtkühlwasser in der Regel 500 ml zur Verfügung, so betrug die Probenmenge beim Gefriertauwasser im Schnitt 7, aber nicht mehr als 8 ml.
Die Fluß- und Schlachtkühlwasserproben wurden direkt, ohne besondere Vorbehandlung, aufgearbeitet.

Das Gefriertauwasser wurde vor dem jeweiligen Versuch innerhalb 12 Stunden bei + 4°C aufgetaut und dann im Verhältnis 1 : 2 mit phys. NaCl-Lsg ver-

setzt, um eine Mindestausgangsmenge von etwa 20 ml zu erhalten.

Die Hühnereier wurden mit 10 ml NaCl-Lsg. pro Ei gründlich abgewaschen und das Spülwasser untersucht.

Das Eigelbpulver wurde in NaCl-Lsg. aufgeschwemmt (10 ml je Gramm Pulver). Die Aufschwemmung wurde anschließend 30 min bei 3.000 U/min zentrifugiert. Das Abpipettieren des Überstandes bereitete Schwierigkeiten, da sich an der Oberfläche des Zentrifugates eine Schicht von schwimmenden Eiteilchen hielt. Über Versuche, durch Anstechen eines Kunststoffzentrifugenröhrchens im Bereich der Mittelfraktion, oder mit Durchstoßen der schwimmenden Teilchenschicht mittels einer Kanüle zu einer teilchenfreien Fraktion zu gelangen, gelangten wir schließlich zu einem brauchbaren Verfahren, über das in einem nachfolgenden Abschnitt berichtet wird.

100 g schlachtnasser Hühnerfedern wurden in 500 ml phys. NaCl-Lsg. gründlich gewaschen und das Spülwasser untersucht.

Die anfallenden Kotmengen schwankten derart, daß unabhängig von der jeweiligen Ausgangsmenge eine Aufschwemmung in 150 ml phys. NaCl-Lsg. hergestellt wurde.

Gewinnung einer Mittelfraktion nach Zentrifugation von Eigelbpulveraufschwemmungen

Es wurden Zentrifugenröhrchen aus Glas mit einem Außendurchmesser von 24 mm angewendet. Als Abdeckung bewährten sich Kunststoffkappen wie sie zum Verschluß angebrochener Kronkorkenflaschen angeboten

werden. Diese Kappen wurden in der Mitte mit einer etwa 1 mm starken Bohrung versehen, in die vor Zentrifugationsbeginn eine Rekordkanüle derart eingebracht wurde, daß ihre Spitze in jedem Fall oberhalb des zu erwartenden Bodensatzes lag (Abb. 1).

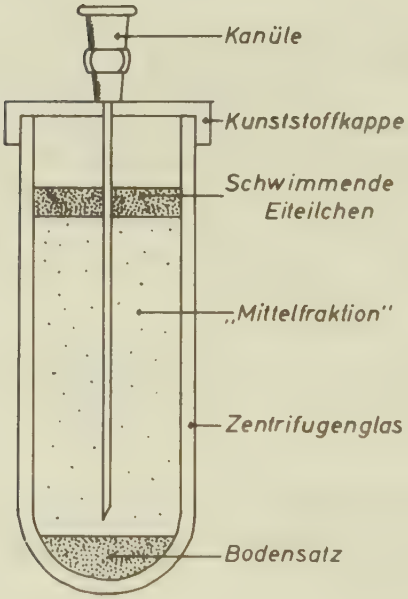

Abb. 1 Schematische Darstellung der Entnahme der Mittelfraktion eines Zentrifugates

Um das Kanüleninnere beim Eintauchen in die Eipulveraufschwemmung und beim Zentrifugieren möglichst frei von Eiteilchen zu halten, wurde der mitgelieferte Mandrin bis zur Beendigung der Zentrifugation in der Kanüle belassen. Nach Entfernen des Mandrins ließ sich somit die von Eiteilchen freie, klare Flüssigkeit (Mittelfraktion) mit einer Rekordspritze absaugen.
Um ein Aufwirbeln des Bodensatzes beim Absaugen zu vermeiden, sollte das Kanülenende einige Millimeter über dem Bodensatz liegen (siehe Abb. 1).
Rekordkanülen sind in verschiedenen Längen erhältlich (bis 150 mm, Fa. Hero), so daß man sie entsprechend der Länge des Zentrifugenröhrchens und der Menge des zu erwartenden Bodensatzes auswählen kann.

Das Material der Abdeckkappe muß in sich so stabil sein, daß es den Druckkräften, die durch das Mitzentrifugieren der Kanüle auftreten, standzuhalten vermag.

4. Testobjekte und Nährböden

Die für die Phagenuntersuchungen notwendigen Test- und Anreicherungsstämme wurden auf Einährböden überimpft, bei + 4°C weitergezüchtet und im Bedarfsfalle auf Endoagar ausgestrichen.

Die "Bunten Reihen" umfaßten zunächst folgende Substrate:

Trypsinbouillon	KCN	Inosit
Gelatine	Dextrose	Mannit
Eisenchloridgelatine	Lactose	Dulcit
VPR-Methylrotbouillon	Saccharose	Salicin
Harnstoffbouillon u. -agar	Adonit	Ammoniumcitrat
	Maltose	Cytochromoxydase
Nitratbouillon		

Die Beweglichkeitsprüfung erfolgte im U-Röhrchen.

Aus technischen Gründen wurde mit dem 22. Versuch die Zahl der Substrate reduziert. Trypsinbouillon, Eisenchloridgelatine, Harnstoffbouillon und -agar, der KCN-Test, Dextrose, Saccharose, Lactose sowie die Beweglichkeitsprüfung erwiesen sich für die Grobdifferenzierung als ausreichend.

II. Spezielle Methodik

Von jeder Untersuchungsflüssigkeit wurden bei Versuchsbeginn zunächst 3 parallele Verdünnungsreihen in Zehnerpotenzen angelegt, um den Verdünnungsfehler möglichst klein zu halten. Aus den Ergebnissen dreier Anreicherungen läßt sich besser auf das wahrscheinliche Endergebnis schließen.

Außerdem bringt das System der 3 Parallelreihen einen weiteren Vorteil: Man kann damit nach MCCRADY (42) durch Bestimmen der "Most Probable Number" (MPN) die wahrscheinliche E.coli- und Coliformenzahl ermitteln. Diese Methode wird bei den amerikanischen Einheitsverfahren angegeben.

Es wurden Flüssigkeitsmengen von 100 ml, 10 ml, 1 ml, 10^{-1} usw. bis 10^{-6} untersucht. In einigen Fällen wurden zusätzlich 500 ml, in einem besonderen Fall 200 ml angereichert.

1. Nachweis von Salmonellen

Abhängig vom Trübungsgrad der Ausgangsflüssigkeit wurden Mengen von 100 bzw. 10 ml entweder im Unterdruckverfahren durch Coli-5-Filter geschickt oder 30 min bei 3.000 U/min zentrifugiert.

Die Filterscheiben bzw. der Bodensatz wurden in 50 ml Tetrathionatbouillon nach PREUSS, je 1 ml der nächst niederen Stufe in je 9 ml Preussbouillon eingebracht und bei 37°C bebrütet. Zeitweilig liefen Parallelversuche mit Bebrütungstemperaturen von 42°C mit.

Nach 24- und 48-stündiger Bebrütung erfolgte die Ausimpfung der flüssigen Anreicherungen auf je 2 Wilson-Blair-Platten. Suspekte Kolonien wurden nach weiteren 24 - 48 Stunden Bebrütung auf Endoagar überimpft und anschließend biochemisch und serologisch differenziert.

2. Nachweis von Salmonellaphagen

Filtrat bzw. Zentrifugat jeder Probe wurden verdünnt und dann in 3 Parallelreihen in Mengen von 10ml,1ml, 0,1ml usw.(Letztere in je 1ml jeder Verdünnungsstufe) mit der gleichen Menge doppeltkonzentrierter Bouillon und jeweils 3 Tropfen einer 2-stündigen Bouillonkultur des Anreicherungsstammes versetzt.

Anreicherungsstämme waren:
S.typhi,Lysotyp "A", S.typhi O 901 sowie der Citrobacterstamm Ci 4 (Vi-positiv).

Nach 24 Stunden Bebrütung bei 37°C lagerten die Anreicherungen weitere 24 Stunden bei + 4°C. Anschliessend wurde 30 min bei 3.000 U/min zentrifugiert, der Überstand abpipettiert und zur Abtötung der Bakterien 40 min im 56°C-Wasserbad erhitzt.

2-stündige 0,7 ml-Bouillonkulturen der Teststämme wurden in pfenniggroßen Flächen auf Wasserblaudextroseagarplatten ausgeimpft, angetrocknet und anschlies-

send mit den bakterienfreien Filtratanreicherungen betropft.
Die Lysisreaktionen waren nach 12 - 24 Stunden ablesbar.

Teststämme waren:

S.typhi, Lysotyp "A"	S.paratyphi-B, Lysotyp "1"	Shig.flexneri
S.typhi, Lysotyp "E_1"	S.enteritidis	Shig.sonnei
S.typhi, Lysotyp "F_1"	S.saint-paul	E.coli
S.typhi O 901	S.panama	E.coli O 25
S.typhi H 901	S.derby	Proteus OX 19
S.typhi 6SR London	S.typhi-murium	Citrobacter Ci 4
S.paratyphi B U 1233 Frankfurt/M	S.give	

3. Nachweis von Coli- und coliformen Keimen

Zur Darstellung der Coli- und coliformen Bakterien wurden 1 ml Ausgangsflüssigkeit sowie je 1 ml jeder Stufe der 3 Verdünnungsreihen mit 9 ml Trypsinbouillon versetzt und 24 Stunden bei 37°C bebrütet. Anschließend erfolgte die Ausimpfung auf Endoagar. Die verdächtigen Kolonien wurden in bunten Reihen mit 6 - 20 verschiedenen Substraten differenziert.

Da sich zeigte, daß in 1 ml Ausgangsflüssigkeit fast regelmäßig Coli- bzw. coliforme Keime nachzuweisen waren, wurde auf die Anreicherung größerer Einzelmengen verzichtet.

Bei den Eigelbpulverproben, bei denen die Trypsinanreicherungen keine oder nur selten positive Befunde erbrachten, wurden zusätzlich von den Wilson-

Blair-Platten der 100 bzw. 10 ml Preussanreicherungen verdächtige Kolonien abgeimpft und biochemisch geprüft.

Indolnegative, salmonellaverdächtige Kolonien auf den Endoplatten wurden mit polyvalentem TPE-Serum getestet.

4. Nachweis der Enterokokken

Zur Anreicherung wurde nach GUTHOFF und DAMMANN (25) eine Natriumacidbouillon folgender Zusammensetzung benutzt:

Bacto-tryptone (Difco)	3 g
Hefeextrakt	1,5 g
Dextrose	4,5 g
Natriumacid	0,15 g
NaCl	18 g
Wasserblau VI extra P	0,0015 g
Aqua dest.	ad 100 ml

Vor jedem Versuch wurde diese Stammlösung im Verhältnis 1 : 2 mit aqua dest. verdünnt. 1 ml dieser Lösung wurde mit 1 ml Ausgangsmaterial, je ein weiterer ml mit je 1 ml der Verdünnungen versetzt und bei 37°C bebrütet.
Nach 24 Stunden wurde von jeder Anreicherung eine Kochsalzblutplatte angelegt, und nach weiteren 24 Stunden Bebrütung konnten verdächtige Kolonien abgeimpft und mit Hilfe von Optochin- und Aeskulinbouillon identifiziert werden.

In einigen Fällen wurden zusätzlich Grampräparate angefertigt.

5. Nachweis von Pseudomonas

Eine Öse mit der Preuss-Anreicherung wurde auf Nähragarplatten ausgestrichen, auf denen eine Farbstoffbildung gut erkennbar ist.

Pseudomonas wächst auf Wilson-Blair-Platten charakteristisch in Form kleiner, gräulicher, krümeliger Kolonien mit gefurchter Oberfläche, so daß auch hiervon Isolierungen vorgenommen werden konnten.

Die Pyocyaninbildung wurde durch Ausschütteln mit Chloroform festgestellt.

6. Bestimmung der Gesamtkeimzahl

Von jeder Verdünnungsstufe wurden 2 Agargußplatten mit je 0,1 ml Flüssigkeit angelegt. Nach 24-- 48-stündiger Bebrütung bei 37°C erfolgte die Auszählung der Kolonien. Die Umrechnung auf 1 ml und das Mittel aus 4 Platten ergab die Gesamtkeimzahl pro Milliliter.

Da das Gefriertauwasser bereits lange aufgetaut gelagert worden war, wurde bis auf 10 Proben auf eine Keimzahlbestimmung verzichtet.

C. Untersuchungsergebnisse

Da alle Untersuchungsproben primär oder nach Behandlung als Flüssigkeiten untersucht wurden, scheint eine Gesamtbetrachtung, unabhängig von der Art des Ausgangsmaterials gerechtfertigt. HUDEMANN verfuhr bei seinen Untersuchungen in ähnlicher Weise.

Die Ergebnisse von 104 Versuchen sind mit fortlaufenden Nummern in der Übersicht in Abb. 2a und 2b wiedergegeben.
Die Darstellungen zeigen für jede Probe den Titer jeder der nachgewiesenen Keimart. E.coli und "Coliforme" wurden am häufigsten nachgewiesen. Beim Auftreten von Salmonellen (1. Spalte) waren fast regelmäßig auch Befunde der anderen Keimarten zu erheben. Die Schwankungen der Titer von Probe zu Probe sind bei den Salmonellen und Phagen geringer als bei den übrigen Keimarten.

Abb. 3 gibt für jedes Untersuchungsmaterial neben der Gesamtprobenzahl die Zahl der positiven Proben bei den einzelnen Keimarten wieder. Es zeigt sich, daß in allen Materialien Indikatorbakterien nachweisbar waren.

Aus 14 Proben konnten weder Salmonellen noch irgendwelche Indikatorkeime isoliert werden.

1. Vorkommen von Salmonellen

Insgesamt 16 Proben enthielten Salmonellen, davon allein 14 der Flußwasserproben. 2mal ließen sich aus den Hühnerkotproben Salmonellen isolieren (S.kingston , S.typhi-murium).

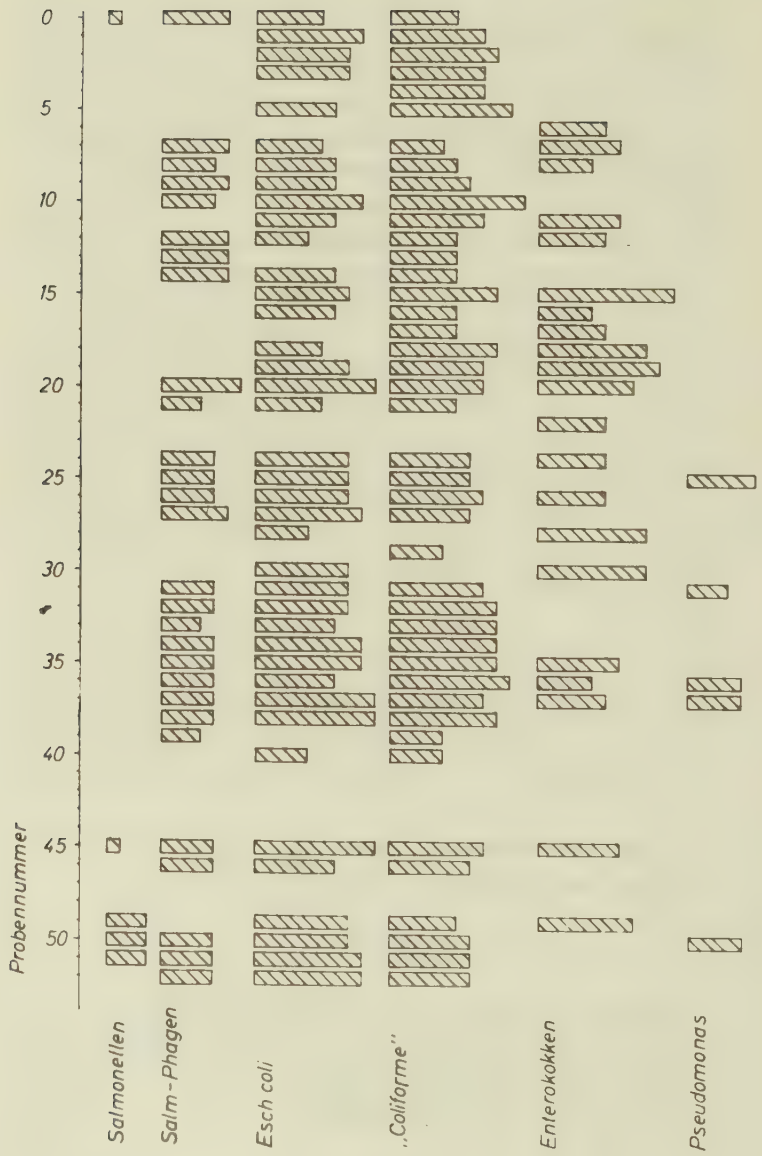

Abb. 2a Gesamtdarstellung aller Untersuchungsergebnisse
(Erläuterung im Text)

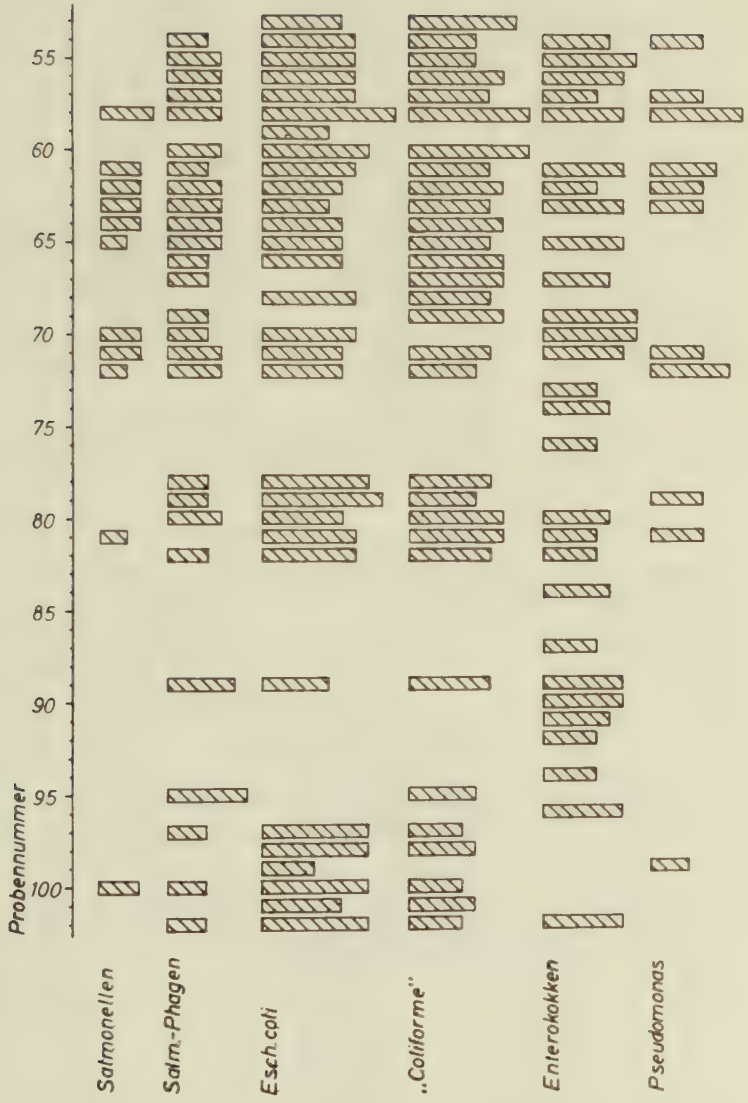

Abb. 2b Gesamtdarstellung aller Untersuchungsergebnisse
(Erläuterung im Text)

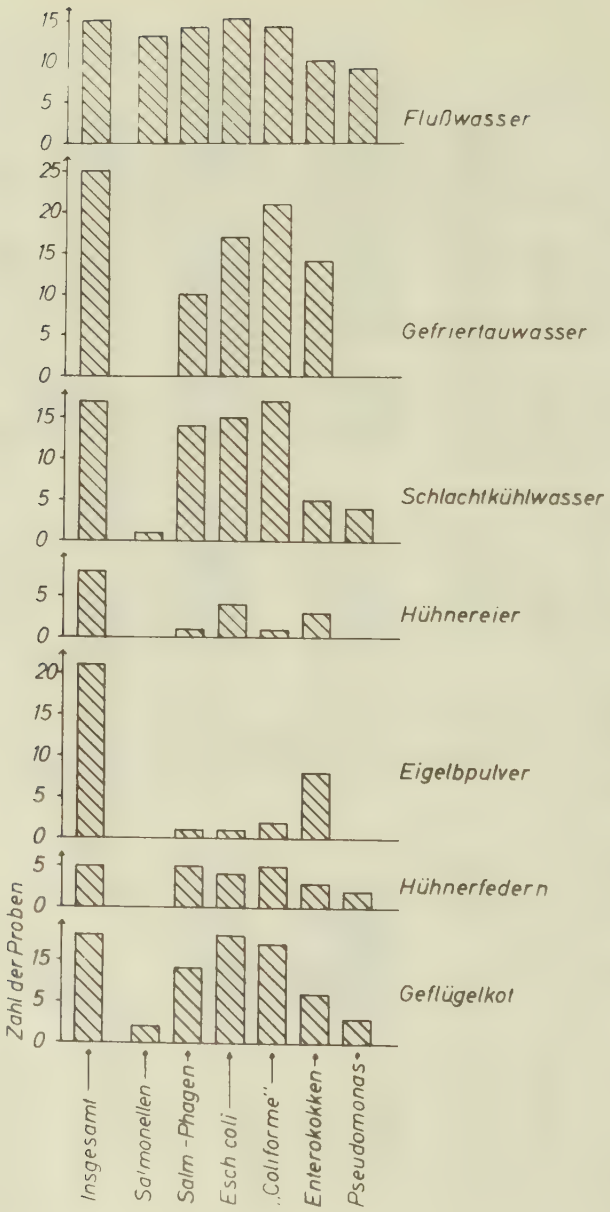

Abb. 3 Häufigkeit der positiven Befunde der einzelnen Indikatoren und der Salmonellen, bezogen auf die einzelnen Untersuchungsproben

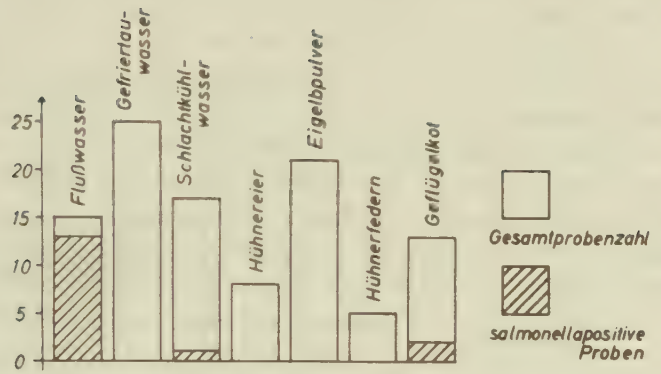

Abb. 4 Gesamtzahl der Proben und Zahl der salmonellahaltigen Proben

Obwohl von 17 Schlachtkühlwasserproben nur eine Salmonellen enthielt, diese aber gleich 3 verschiedene Enteritis-Salmonellen und 2 S.paratyphi-B-Stämme (Lysotyp "1 mc" und "Taunton"), so ist dieser Befund besonders beachtenswert. Schlachtkühlwasser gilt als eine der wesentlichen Ursachen, die zu dem in der Literatur beschriebenen hohen Salmonellabefall bei Schlachtgeflügel führen (GROßKLAUS und NEUSCHULZ (21), RACKOW und WELZ (51)). BULLING und PIETSCH (7) glauben bei der Untersuchung von Schlachtgeflügel sogar an einen Zusammenhang zwischen Salmonellabefall und Fremdwasseranteil der Tiere. Das Fremdwasser gelangt während des Kühlvorganges in die geschlachteten Tiere. Sein Anteil beträgt beim Geflügel bis zu 8 % und mehr.

Zur Vermeidung der Fremdwasseraufnahme könnten die

Schlachttiere vor dem Kühlen in PVC-Folie eingeschweißt werden (GROßKLAUS (20), GROßKLAUS und LESSING (19)).

Die Kontamination des Schlachtgeflügels kommt wie folgt zustande:
In der Schlachterei werden die Tiere nach dem Abtöten zunächst in ein 40 - 60°C-Brühbad eingebracht und das Gefieder anschließend in einem sogenannten Rupfkarussel entfernt. Da in diesem Gerät jeweils mehrere Tiere gleichzeitig bearbeitet werden, ist es bei Durchlauf eines Keimträgers möglich, andere Tiere mitzuinfizieren. Vor der endgültigen Verarbeitung bzw. dem Einfrieren wird das Geflügel zum schnelleren Abkühlen in Eiswasserbecken eingetaucht. Hierin können alle durchtauchenden Tiere kontaminiert werden.

Aus einem derartigen Kühlbecken stammen die untersuchten Schlachtkühlwasserproben, aus einer Rupfmaschine die Hühnerfedern.

EKSTAM (14) konnte bei Untersuchungen in einer Schweineschlachterei nachweisen, daß es auch durch Brühwasser zu Keimverschleppungen kommt.

Nach Untersuchungen von P. HOFMANN, HÖRCHNER und WOLLE-JOHN (30) waren aus Asien importierte Hühnerfedern stark mit Salmonellen infiziert, während aus europäischen Ländern stammende Federn salmonellafrei waren. Die von uns untersuchten Federn erwiesen sich ebenfalls als salmonellafrei.

Bei den Gefriertauwasserproben konnten Salmonellen nicht gefunden werden. Möglicherweise lag die Ausgangsmenge jeder einzelnen Probe schon unterhalb des

jeweiligen Salmonellatiters. Eine Rückfrage beim Institut für Lebensmittelhygiene der Freien Universität Berlin ergab, daß nur eine von 25 Proben (Nr. 20) der vorliegenden Untersuchungen salmonellapositiv war (Gefriertauwasser einer holländischen Ente). Der Pnagentiter dieser Probe lag eine Stufe höher als der der anderen Proben. Die übrigen Indikatoren zeigten nicht stärker an.

Wie MOSSEL (47) bereits im Jahre 1963 zeigte, überleben Salmonellen sowohl den Einfrier- als auch den Auftauvorgang.

GROßKLAUS und LEVETZOW (22) wiesen nach, daß bei den üblichen Zubereitungsarten von Schlachtgeflügel mit lebensfähigen Salmonellen nicht mehr zu rechnen ist, jedoch ergeben sich für die an der Verarbeitung und dem Transport beteiligten Personen mannigfache Möglichkeiten der Infektion.

Im Eigelbpulver konnten keine Salmonellen nachgewiesen werden. Tatsache ist aber, daß speziell Eigelbpulver häufig mit Salmonellakeimen kontaminiert ist. S. WINKLE, R. ROHDE und J. BISCHOFF (62) haben 1956 - 57 bei der Untersuchung von 3.825 Eipulverproben 188mal Salmonellen isoliert. Im Jahre 1960 konnten SEIDEL und CH. SCHULZ (55) aus 631 Proben 28mal Salmonellen isolieren.
Im Jahre 1956 wurde deshalb die "Verordnung zum Schutze gegen Infektion durch Erreger der Salmonella-Gruppe in Eiprodukten" (3) erlassen. Diese Verordnung verbietet, daß Eiprodukte ohne salmonellaabtötende Vorbehandlung in den Handel gebracht werden.

Die Salmonellen finden sich im Eipulver nicht gleichmäßig verteilt, sondern in Nestern, "Es kann daher

nicht einmal mit 100 % Sicherheit gesagt werden, daß die Packstücke, in denen keine Salmonellen festgestellt werden konnten, auch wirklich frei von diesen Keimen sind." (J. BISCHOFF zitiert bei DRÄGER (13)).

MOSSEL (46) schreibt, daß in den Niederlanden in 5 g Eigelbpulver kein Salmonellabakterium isolierbar sein darf.

Die Ursache allen Salmonellabefalls beim Geflügel und in Geflügelprodukten wird in verunreinigten Futtermitteln zu suchen sein.

Serotypen der Salmonellen

Insgesamt wurden 45mal Salmonellen isoliert, und zwar 13 verschiedene Serotypen aus 6 verschiedenen Serogruppen (siehe Tab. 1). Einige Proben enthielten mehrere Typen nebeneinander.
In nahezu allen Proben konnte S.kottbus nachgewiesen werden.

Nachforschungen über das Vorkommen von 2 Paratyphus B-Stämmen im Schlachtkühlwasser konnten leider nicht mehr angestellt werden, da die Schlachterei, die ohnehin nur in der Sommersaison arbeitet, ihren Betrieb gänzlich eingestellt hatte. Das Kühlwasser wurde der Trinkwasserleitung entnommen (das Gebäude wird von den Spandauer Wasserwerken versorgt, telefonische Auskunft der Berliner Wasserwerke), so daß eine Kontamination auf diesem Wege wenig wahrscheinlich ist. Eine Infektion durch Keimträger unter den Angestellten des Betriebes ließ sich aus den oben genannten Gründen weder bestätigen noch ausschliessen.

Serotyp	Zahl der isolierten Stämme	Untersuchungsproben: Flußwasser	Gefriertauwasser	Schlachtkühlwasser	Eiwaschflüssigkeit	Eigelbpulver	Hühnerfedern	Geflügelkot
S.paratyphi B Lysotyp "1mc"	1	1	-	-	-	-	-	-
S.paratyphi B Lysotyp "1var."	1	-	-	1	-	-	-	-
S.paratyphi B Lysotyp "Taunton"	1	1	-	-	-	-	-	-
S.paratyphi B var. odense Lysotyp "Taunton"	1	-	-	1	-	-	-	-
S.reading	3	3	-	-	-	-	-	-
S.derby	4	4	-	-	-	-	-	-
S.kingston var. Kopenhagen	3	2	-	-	-	-	-	1
S.typhi-murium	2	1	-	-	-	-	-	1
S.bredeney	1	1	-	-	-	-	-	-
S.stanleyville	1	1	-	-	-	-	-	-
S.thompson	2	2	-	-	-	-	-	-
S.kottbus	13	12	-	1	-	-	-	-
S.panama	2	1	-	1	-	-	-	-
S.anatum	8	7	-	1	-	-	-	-
S.give	1	1	-	-	-	-	-	-
S.newington	1	1	-	-	-	-	-	-
sgesamt	45	38	-	5	-	-	-	2

Tab. 1 Aufstellung aller isolierten Salmonellen, aufgeteilt nach Serogruppen und Untersuchungsproben

Salmonellentiter

Abb. 5 zeigt die Häufigkeit der Salmonellentiter bezogen auf die einzelnen Untersuchungsproben. Auffallend ist, daß der Titer 10 am häufigsten gefunden wurde. (Abb.5, siehe S.30)

2. Vorkommen von Salmonellaphagen

Bei 53 von 104 untersuchten Proben wurden Phagen isoliert. Dabei galt eine Probe dann als phagenpositiv, wenn einer der 14 Samonellateststämme deutlich lysiert wurde.

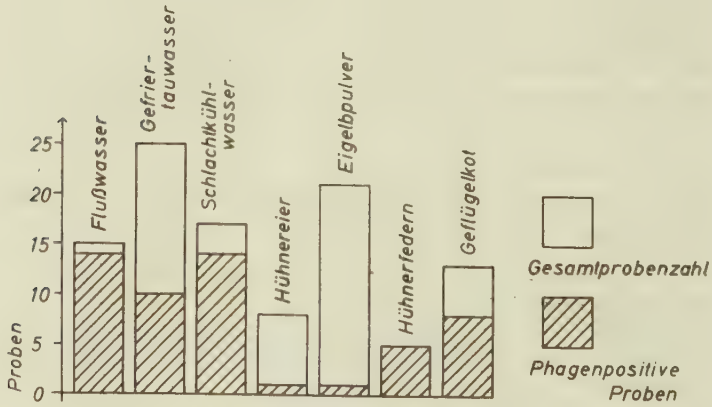

Abb. 6 Gesamtzahl der Proben und Zahl der phagenhaltigen Proben

Wie Abb. 6 zeigt, gab es kein Probenmaterial, das immer frei von Phagen war. Eiwaschflüssigkeit ebenso

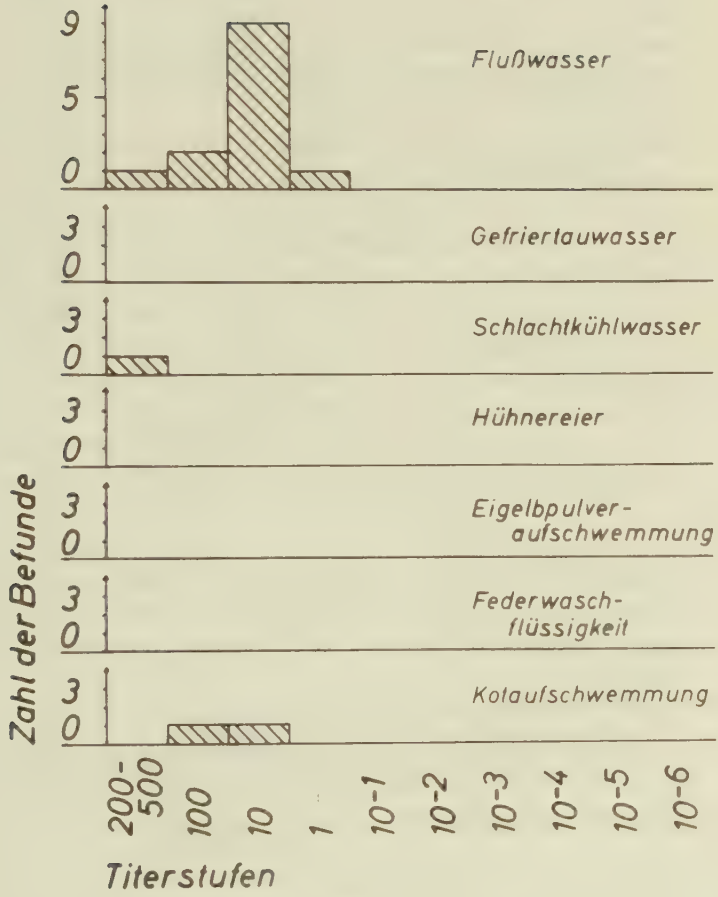

Abb. 5 Häufigkeit der Salmonellentiter
(500 und 200 ml ergeben eine Stufe)

wie die Eigelbpulveraufschwemmungen waren wenig positiv, während die Fluß- und Schlachtkühlwasserproben am häufigsten Phagen enthielten.

Abb. 7 gibt die Häufigkeit der Phagentiterstufen wieder.
Das Gefriertauwasser zeigte hierbei den höchsten Phagentiter, obgleich es nicht gelang, Salmonellen nachzuweisen.
HUDEMANN (31) beobachtete sei seinen Lebensmitteluntersuchungen ähnliches.

Betrachtet man die Häufigkeit positiver Phagenreaktionen bei den einzelnen Teststämmen (Abb. 8), so zeigt sich, daß mit allen 3 Anreicherungsstämmen Salmonellaphagen anzureichern sind. Diese Tatsache spricht für eine nicht optimale Spezifität der Anreicherungsmethoden, wie sie auch von ACKERMANN (1), GUELIN (24), HUDEMANN (31) und LENK (36) beschrieben wird.

Auf Salm.typhi, Lysotyp "A", "E_1", "F_1" sowie auf Salm.typhi O 901, H 901 und 6 SR "London" waren häufiger positive Phagenreaktionen zu verzeichnen, als auf den übrigen Stämmen. Bei größerer Verdünnung verstärkt sich dieses Bild.
Auffallend wenige Phagenreaktionen auf einem der Salmonellateststämme könnte man als Zeichen einer Phagenresistenz werten. Sie ließ sich jedoch bei keinem der Teststämme erkennen.

Mit dem Vi-positiven Citrobacter Ci 4 können sich Vi-Phagen anreichern lassen. Es zeigt sich aber, daß auch andere als Vi-positive Salmonellateststämme von den Ci 4-Anreicherungen lysiert werden. Insbesondere fällt in Abb. 8 die Häufigkeit positiver

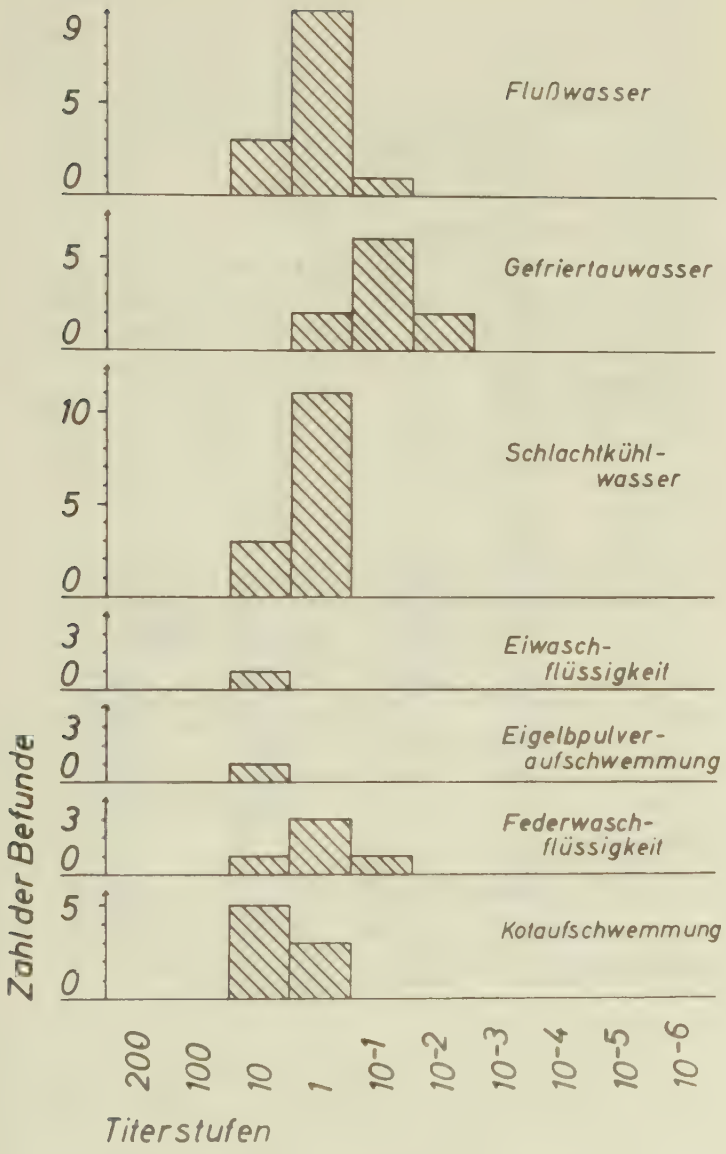

Abb. 7 Häufigkeit der Phagentiterstufen

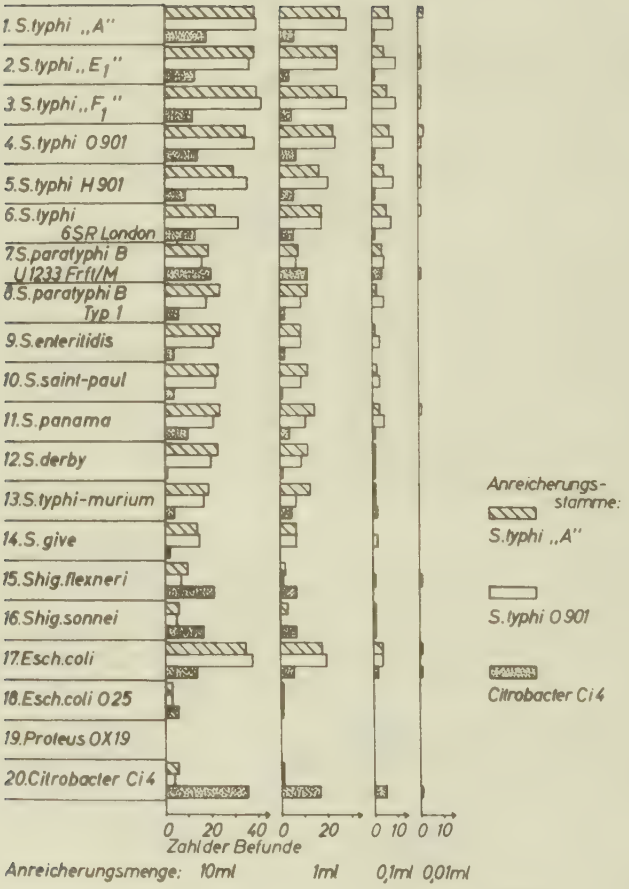

Abb. 8 Häufigkeit positiver Phagenreaktionen bei den einzelnen Teststämmen

Reaktionen auf Teststamm 6 und 7 (S.typhi 6 SR "London" und S.paratyphi B U 1233 "Frankfurt/Main", ebenfalls ein Rauhstamm) sowie auf Shig.flexneri und sonnei auf. Möglicherweise handelt es sich um unspezifische Reaktionen von Rauhanteilen. Eine genaue Prüfung konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht erfolgen.

Interessant war, die Frage zu klären, ob der Stamm Ci 4 in der Lage ist, Vi-Phagen bevorzugt anzureichern. Es wurden hierzu phagenpositive Proben herangezogen, in denen bei 10 ml sowohl die Citrobacter- wie auch die beiden Salmonellaanreicherungen mindestens einen Salmonellateststamm lysiert hatten. Die Abb. 9 zeigt die Häufigkeit der positiven Phagenreaktionen.

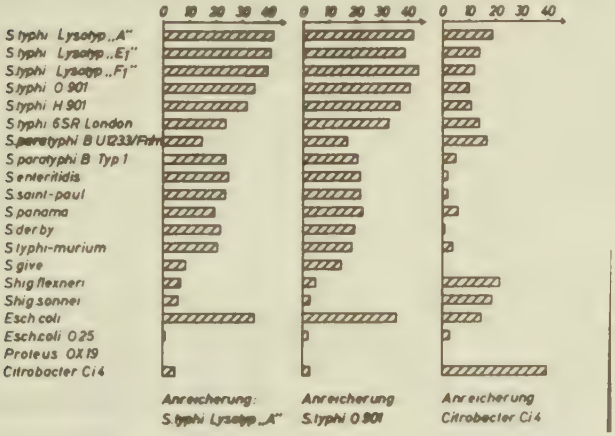

Abb. 9 Häufigkeit positiver Phagenreaktionen in Proben, bei denen bei 10 ml alle 3 Anreicherungen angesprochen haben

Bei der Anreicherung mit Salmonella typhi, Lysotyp "A" ist die Anzahl der Phagenreaktionen auf den Vi-positiven Salmonellateststämmen gegenüber den übrigen Stämmen deutlich erhöht. Bei der Ci 4-Anreicherung fallen wieder die häufig positiven Reaktionen auf den oben erwähnten Rauhstämmen auf. Die Zahl der Lysisreaktionen auf den Vi-positiven Salmonellateststämmen ist geringfügig erhöht.

Dieser Befund dürfte allerdings kaum praktischen Nutzen haben. Er ist vielmehr dazu angetan zu zeigen, wie relativ unspezifisch die Anreicherungsstämme noch sind.

3. Vorkommen von Escherichia coli

69 von 101 untersuchten Proben erwiesen sich als E.coli-positiv. Abgesehen von den Eipulveraufschwemmungen, bei denen nur eine Probe E.coli-haltig war, enthielten alle anderen Proben bis zu 100, mindestens aber zu 50 % E.coli (Abb. 10).

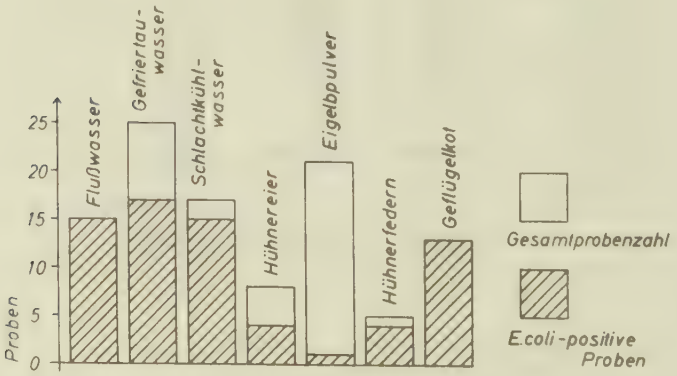

Abb. 10 Gesamtzahl aller Proben und Zahl der E.coli-haltigen Proben

Durch die eingangs beschriebenen 3 Parallelverdünnungsreihen ergaben sich für jede Probe maximal 3 Titer. Um mit den anderen Keimarten vergleichbare Werte zu erhalten, ging in der Regel die Titerstufe in die endgültige Tabelle ein, die von mindestens 2 Reihen erreicht wurde. Für den Fall 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-2} also der Titer 10^{-2}. Ergab sich folgender Fall 1 ml, 10^{-2}, 10^{-2}, so wurde der nächst niedere Titer, also 10^{-1} angegeben.

Außer dem Zibulver waren sämtliche Proben erheblich mit E.coli kontaminiert. Die Mittelwerte lagen beim Titer 10^{-2} bis 10^{-3} (siehe Abb. 11).

E.coli-Keimzahl und "Most Probable Number" (MPN)

Die Verwendung dreier paralleler Verdünnungsreihen gestattet unter Zuhilfenahme der "Most Probable Number" einen Einblick in die Keimzahl des Untersuchungsgutes.

Der Colititer 1 bedeutet, daß in 1 ml noch E.coli-Keime nachgewiesen werden, wobei rechnerisch die Keimzahl im Minimum 1, im Maximum aber 9 beträgt. Hiervon ausgehend läßt sich für jede Titerstufe eine Mindest- bzw. Höchstkeimzahl errechnen.

Das Verfahren der "Most Probable Number" nun ist eine Methode, aus den Ergebnissen mehrerer paralleler Verdünnungsreihen zu statistisch abgesichert genaueren Keimzahlwerten zu gelangen, als sie der Titer ergibt.

Die Tabellen aus den "Standard Methods" (2), die bei den vorliegenden Untersuchungen zugrunde gelegt wurden, beziehen sich auf die Stufen 10 ml, 1 ml und

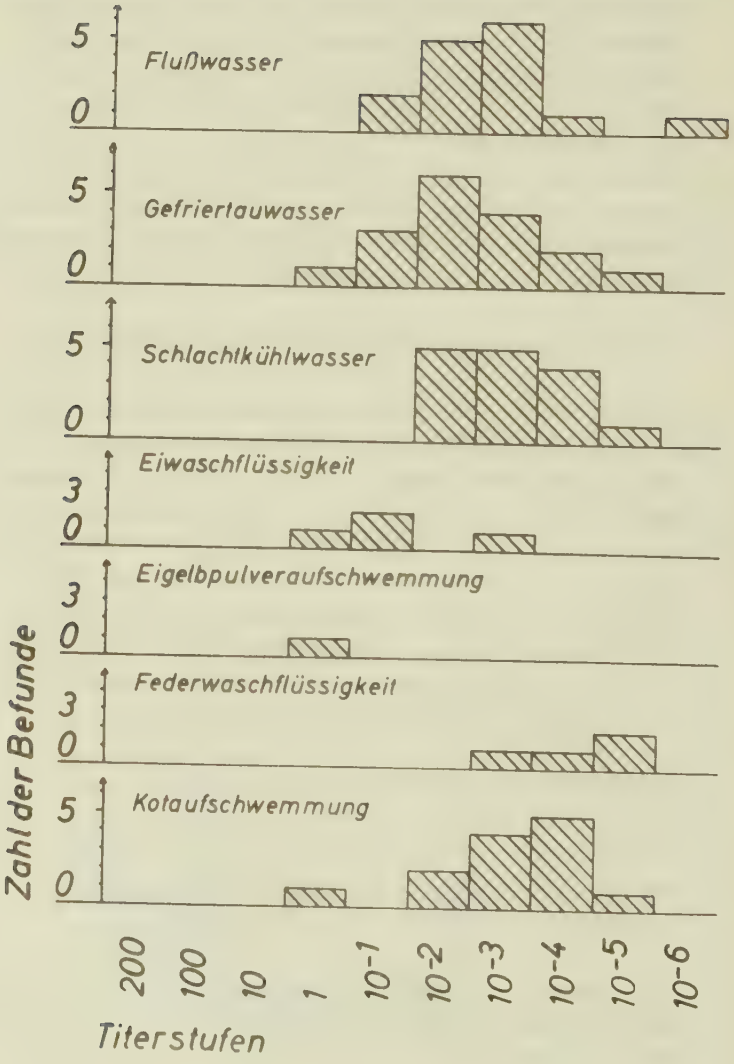

Abb. 11 Häufigkeit der Colititerstufen

0,1 ml von drei Verdünnungsreihen, also auf den Befund von insgesamt 3mal 3 Röhrchen. Alle Möglichkeiten des positiven Ausfalls dieser 9 Röhrchen sind in den Tabellen verzeichnet, so daß die entsprechenden Keimzahlen pro 100 ml entnommen werden können (siehe Tab. 2).

Zahl der positiven Röhrchen			"MPN"
10 ml	1 ml	0,1 ml	
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	2	3	290
3	3	0	240
3	3	1	460
33	3	2	1.100

Tab. 2 "Most Probable Number" (MPN) in 100 ml bei Verwendung von 3 parallelen Verdünnungsreihen (Ausschnitt aus (2))

Ist das zu untersuchende Material stärker oder schwächer kontaminiert, so werden jeweils die drei letzten positiven Stufen für die Auswertung herangezogen und die Keimzahlen um die entsprechende Zehnerpotenz vergrößert oder verkleinert. Für den Fall 1 ml, 0,1 ml, 0,01 ml müßte die Keimzahl aus der Tabelle mit 10 multipliziert werden, für den Fall 100 ml, 10 ml, 1 ml durch 10 dividiert werden usw.

Tab. 3a und 3b zeigen für jede E.colihaltige Probe neben dem Titer und der entsprechenden Mindestkeimzahl die wahrscheinliche E.coli-Keimzahl, die analog

Proben-nummer	Titer	Minimalkeimzahl der Titerstufe	WKZ
0	10^{-1}	10	24
1	10^{-4}	10000	24000
2	10^{-3}	1000	2400
3	10^{-2}	100	750
5	10^{-1}	10	21
7	10^{-1}	10	11
8	10^{-2}	100	460
9	10^{-2}	100	110
10	10^{-4}	10000	46000
11	10^{-2}	100	240
12	1	1	4,6
14	10^{-2}	100	750
15	10^{-3}	1000	1100
16	10^{-2}	100	460
18	10^{-1}	10	15
19	10^{-3}	1000	1500
20	10^{-5}	100000	110000
21	10^{-1}	10	15
24	10^{-3}	1000	1100
25	10^{-3}	1000	2400
26	10^{-3}	1000	1100
27	10^{-4}	10000	24000
28	1	1	4,6
30	10^{-3}	1000	2400
31	10^{-2}	100	210
32	10^{-3}	1000	1100
33	10^{-2}	100	110
34	10^{-4}	10000	11000
35	10^{-4}	10000	46000
36	10^{-2}	100	750
37	10^{-5}	100000	240000
38	10^{-5}	100000	110000
40	1	1	21
45	10^{-5}	100000	150000
46	10^{-2}	100	150

Tab. 3a Titer und wahrscheinliche E.coli-Zahl bei E.colihaltigen Proben

Proben-nummer	Titer	Minimalkeimzahl der Titerstufe	WKZ
49	10^{-3}	1000	2400
50	10^{-3}	1000	1100
51	10^{-4}	10000	24000
52	10^{-4}	10000	46000
53	10^{-2}	100	460
54	10^{-3}	1000	4600
55	10^{-3}	1000	4600
56	10^{-3}	1000	1100
57	10^{-3}	1000	4600
58	10^{-6}	1000000	2400000
59	10^{-1}	10	46
60	10^{-4}	10000	46000
61	10^{-3}	1000	1100
62	10^{-2}	100	460
63	10^{-1}	10	46
64	10^{-2}	100	240
65	10^{-2}	100	110
66	10^{-2}	100	110
68	10^{-3}	1000	1100
70	10^{-3}	1000	1100
71	10^{-2}	100	240
72	10^{-2}	100	460
78	10^{-4}	10000	46000
79	10^{-5}	100000	110000
80	10^{-2}	100	240
81	10^{-3}	1000	2400
82	10^{-3}	1000	1100
89	10^{-1}	10	11
97	10^{-4}	10000	11000
98	10^{-4}	10000	11000
99	1	1	4,6
100	10^{-4}	10000	24000
101	10^{-2}	100	110
102	10^{-4}	10000	1100

Tab. 3b Titer und wahrscheinliche E.coli-Zahl bei E.colihaltigen Proben

dem Verfahren der "MPN" ermittelt wurde.

Der Arbeitsaufwand bei Ermittlung der wahrscheinlichen E.coli-Zahl (WKZ, nach STURDZA) ist gegenüber der Titerbestimmung nicht wesentlich erhöht. Der Vorteil der "WKZ" liegt entscheidend in der genaueren Aussage, wobei der Zwang zu einer breiteren Ausgangsbasis schon zu einer Verringerung der Fehlermöglichkeit führt. Es werden in den "Standard Methods" (2) auch Tabellen für die Auswertung von mehr als 3 Verdünnungsreihen angegeben.

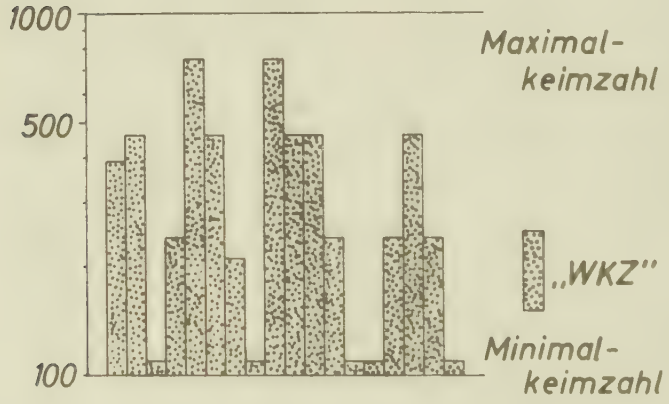

Abb. 12 Minimal- und Maximalkeimzahl sowie die wahrscheinliche E.coli-Zahl (WKZ) des Titers 10^{-2}

Abb. 12 zeigt, welch differenzierte Aussage durch die "WKZ" gegenüber dem Titer gewonnen wird. Als Beispiel wurden E.coli-positive Proben des Titerbereiches 10^{-2} herangezogen. Als untere Grenze ist die Minimal-, als obere die Maximalkeimzahl der

Titerstufe dargestellt. Die wahrscheinlichen E.coli-Zahlen sind als schraffierte Saulen eingezeichnet.

Daß auch das Verfahren der "MPN" nicht unbestritten ist, zeigt folgende Außerung von SLANETZ und Mitarbeitern (58): "Although counts were lower by MF (Membranfiltermethode gegenüber MPN), this procedure gives a more accurate estimate of numbers since direct counts are possible."

4. Vorkommen von coliformen Keimen und Proteus hauseri

Folgende Keimarten wurden unter dem Begriff "Coliforme" zusammengefaßt:

Citrobacter sp.
Enterobacter sp.
Klebsiella sp.

Wurde ein Keim dieser Gruppe gefunden, so galt die entsprechende Probe als Coliformen-positiv.

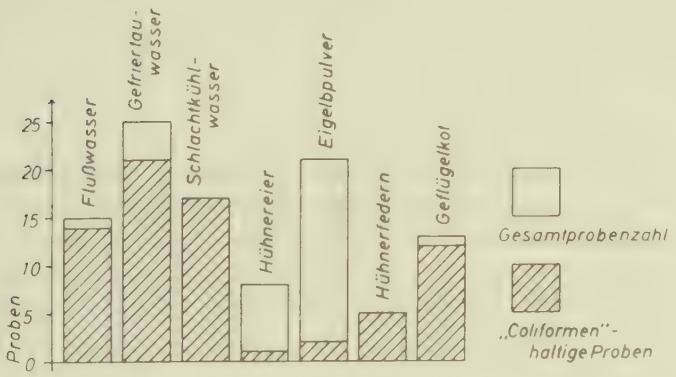

Abb. 13 Gesamtzahl der Proben sowie Zahl der Coliformen- bzw. Proteus-haltigen Proben bezogen auf die einzelnen Untersuchungsmaterialien

Die Abb. 13 zeigt für jedes Untersuchungsmaterial neben der Gesamtzahl der Proben die Zahl der Coliformen- und Proteusbefunde an.(Insgesamt 72 Befunde)

Die Hühnereier und das Eigelbpulver waren wenig mit "Coliformen" behaftet.
Tab. 4 gibt die Verteilung der Keimarten wieder.

Von den Untersuchungsproben war das Schlachtkühlwasser am häufigsten mit Citrobacter behaftet. 13 der insgesamt 17 Proben waren positiv. SEDLAK (53) fand bei Fleisch, Organen von Schlachttieren und Fleischwaren ebenfalls einen relativ hohen Citrobacterbefall.

Die Abb. 14 zeigt die Häufigkeit der Coliformentiter. Wenn sich auch kein einheitliches Bild ergibt, so ist doch ein Hervortreten der Titerstufen 10^{-1} bis 10^{-3} erkennbar.

Analog dem Verfahren der "Most Probable Number" (MPN) lassen sich, wie schon bei E.coli gezeigt, auch die wahrscheinlichen Keimzahlen für die coliformen Bakterien ermitteln. Sie sind in Tab. 5a und 5b wiedergegeben.

STURDZA (59) hat 1961 - 62 ebenfalls an Hand der MCCRADY-schen Tabellen die wahrscheinlichen Proteuszahlen in Oberflächen und Abwässern ermittelt. Er stellte fest, daß die Proteuszahl (WPZ) proportional der organischen Verschmutzung eines Abwassers ist. STURDZA schreibt: "Damit erweisen sich Proteuszahlbestimmungen als zuverlässiger Indikator des organischen Verschmutzungsgrades."
Proteus hauseri entzieht sich durch sein Schwärm-

Untersuchungsproben	Zahl der "coliformen-positiven" Proben	"Coliforme Keime" u. "Proteus"				
		Citro-bacter	Entero-bacter	Klebsi-ella	Proteus h.	
					mira-bilis	vulga-ris
Flußwasser	14	8	7	2	1	4
Gefriertau-wasser	21	7	18	8	5	1
Schlachtkühl-wasser	17	13	2	2	6	4
Eiwasch-flüssigkeit	1	-	1	1	-	-
Eigelbpulver-aufschwemmung	2	-	2	-	-	-
Federwasch-flüssigkeit	5	5	-	-	3	-
Kotauf-schwemmung	12	6	5	5	2	2
Gesamt.	72	39	35	18	17	11

Tab. 4 Verteilung der "Coliformen Keime" und Proteus hauseri auf die einzelnen Untersuchungsproben

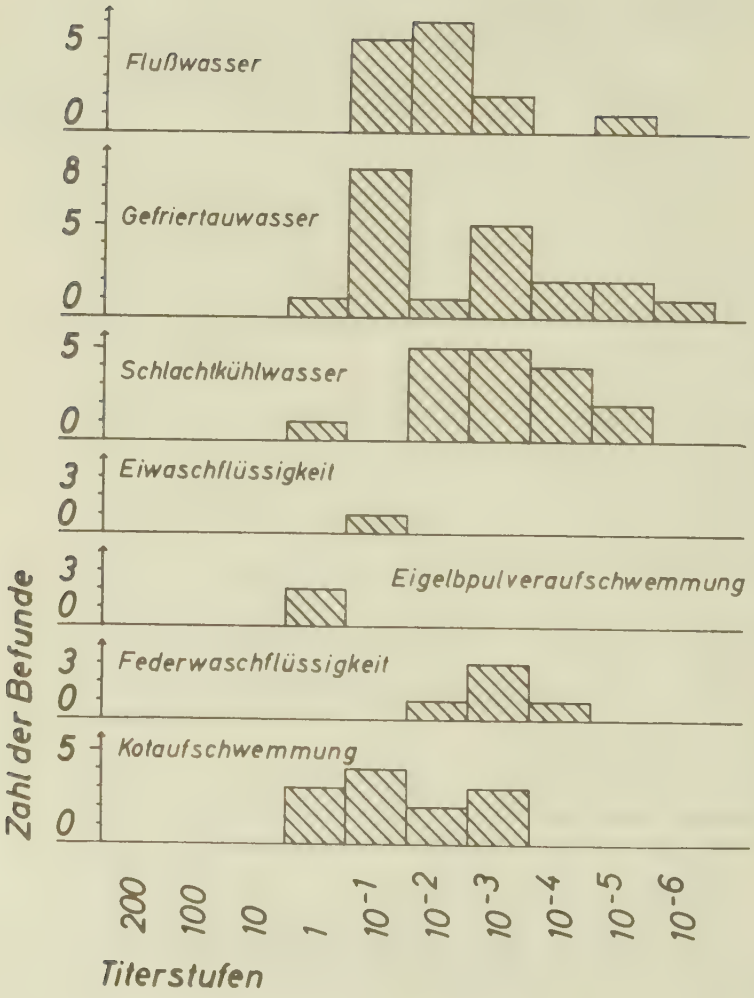

Abb. 14 Häufigkeit der Coliformentiter

Proben-nummer	Titer	Minimalkeimzahl der Titerstufe	Wahrscheinliche "Coliformenzahl" nach "MPN"
0	10^{-1}	10	24
1	10^{-3}	1000	4600
2	10^{-4}	10000	24000
3	10^{-3}	1000	2400
4	10^{-3}	1000	1100
5	10^{-5}	100000	110000
7	1	1	1,1
8	10^{-1}	10	46
9	10^{-1}	10	11
10	10^{-6}	1000000	1100000
11	10^{-3}	1000	1100
13	10^{-1}	10	24
14	10^{-1}	10	24
15	10^{-4}	10000	24000
16	10^{-1}	10	46
17	10^{-1}	10	24
18	10^{-5}	100000	150000
19	10^{-3}	1000	2400
20	10^{-3}	1000	1100
21	10^{-1}	10	46
24	10^{-2}	100	240
25	10^{-2}	100	240
26	10^{-3}	1000	2400
27	10^{-2}	100	460
31	10^{-3}	1000	4600
32	10^{-4}	10000	24000
33	10^{-4}	10000	11000
34	10^{-4}	10000	46000
35	10^{-4}	10000	15000
37	10^{-3}	1000	1100
38	10^{-4}	10000	46000
39	1	1	2,4
40	1	1	0,75
45	10^{-3}	1000	4600

Tab. 5a Coliformentiter und wahrscheinliche Zahl der "coliformen Keime" bestimmt nach dem Verfahren der "MPN"

Proben-nummer	Titer	Minimalkeimzahl der Titerstufe	Wahrscheinliche "Coliformenzahl" nach "MPN"
46	10^{-2}	100	460
48	10^{-1}	10	46
50	10^{-2}	100	110
51	10^{-2}	100	240
52	10^{-2}	100	210
53	10^{-4}	10000	24000
54	10^{-1}	10	46
55	10^{-1}	10	46
56	10^{-2}	100	150
57	10^{-2}	100	240
58	10^{-5}	100000	460000
60	10^{-5}	100000	460000
61	10^{-2}	100	240
62	10^{-3}	1000	2400
63	10^{-2}	100	110
64	10^{-3}	1000	1100
65	10^{-2}	100	240
67	10^{-3}	1000	2400
68	10^{-2}	100	240
69	10^{-2}	100	750
71	10^{-2}	100	460
72	10^{-1}	10	15
79	10^{-1}	10	11
80	10^{-3}	1000	4600
81	10^{-3}	1000	2400
82	10^{-2}	100	240
89	10^{-2}	100	110
95	10^{-1}	10	46
97	1	1	2,4
98	10^{-1}	10	11
100	1	1	4,6
101	10^{-1}	10	11
102	1	1	2,4

Tab. 5b Coliformentiter und wahrscheinliche Zahl der "coliformen Keime" bestimmt nach dem Verfahren der "MPN"

vermögen der üblichen Auszählung auf Nährbodenplatten, laßt sich aber gerade durch das Schwärmen gut nachweisen. Er erscheint deshalb für Untersuchungen nach dem Verfahren der "MPN" besonders geeignet.

5. Vorkommen von D-Streptokokken

Obwohl die Eipulverproben allgemein wenig mit Keimen behaftet waren, konnten D-Streptokokken hierbei relativ häufig isoliert werden.(siehe Abb.16)

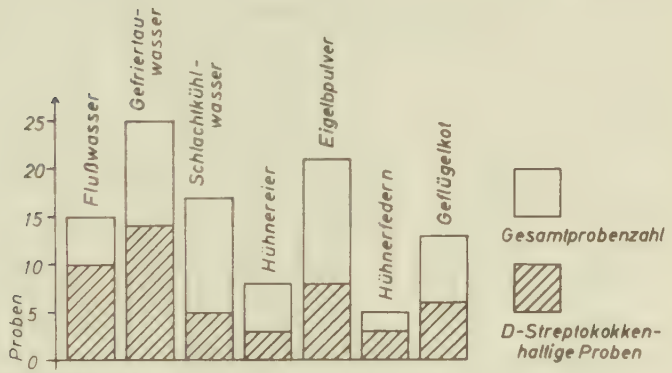

Abb. 16 Gesamtzahl der Proben und Zahl der Enterokokken-positiven Proben

BITZU und Mitarbeiter (6) meinen, daß es z. B. bei der Trockenmilchherstellung durch den Erwärmungsprozeß zur Vermehrung von D-Streptokokken kommen könne. Sie sehen daher in den D-Streptokokken einen guten Indikator für die Feststellung der Verunreinigung eines Erzeugnisses während der Herstellung.

BURTON (9) hat bei der Untersuchung von Gefrierkost festgestellt, daß die D-Streptokokken das Einfrieren und die Lagerung bei -20°C besser überdauern als die coliformen Bakterien. Eine besondere Häufigkeit der D-Streptokokken bei den Gefriertauwasserproben war nicht zu erkennen.

6. Vorkommen von Pseudomonas aeruginosa

Aus 18 von 104 Proben ließen sich Pseudomonaskeime isolieren. Davon allein 9 beim Flußwasser. Gefriertauwasser, Eiwaschflüssigkeit und die Eigelbpulveraufschwemmungen waren in den untersuchten Mengen frei von Pseudomonasbakterien.

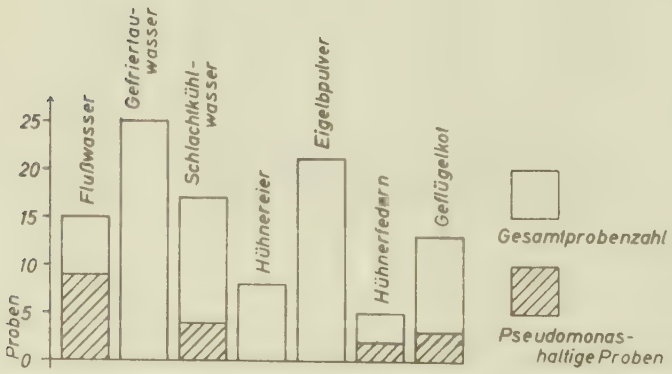

Abb. 17 Gesamtzahl der Proben und Zahl der pseudomonashaltigen Proben

Übereinstimmend berichten mehrere Autoren von einer Zunahme des Pseudomonasvorkommens (LENK (36), HENNE-

BERG und MÜLLER (27), SELENKA (56) und andere (64)). HENNEBERG und MÜLLER (27) vermuten einen Zusammenhang mit der immer stärker geübten Chemotherapie. Pseudomonasbakterien gelten als primär antibiotikaresistent (Die meisten Stämme sind nur gegen Colistin bzw. Polymyxin B empfindlich, wenige auch gegen Streptomycin).

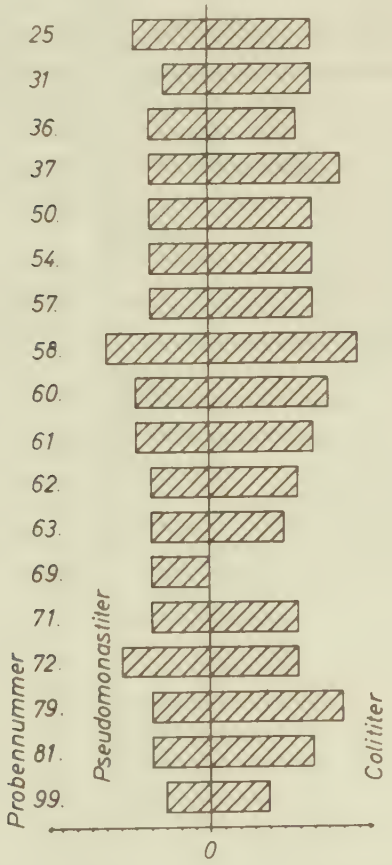

Abb. 18 Verhalten von Coli- und Pseudomonastiter bei pseudomonashaltigen Proben (Unterteilung in Titerstufen)

COETZEE (11) glaubt 1962 festgestellt zu haben, daß Pseudomonas aeruginosa in verschmutzten Gewässern antagonistisch auf E.coli wirkt. In Abb. 18 sind Pseudomonas- und Colititer gleicher Proben einander gegenübergestellt. Eine Gegenläufigkeit ist nicht erkennbar.

7. Gesamtkeimzahlen

Die Gesamtkeimzahlen schwankten bei der Verschiedenartigkeit der Untersuchungsmaterialien verständlicherweise beträchtlich. Die Tab. 6a und 6b geben die Keimzahlwerte für die einzelnen Proben wieder. Für die Hühnereier, das Eigelbpulver und die Kotproben wurde die Gesamtkeimzahl auf die Ausgangsmenge bezogen, also in Keime/Ei bzw. Keime/g angegeben.
Die Schwankungen liegen zwischen 5 und 10^8 Keimen/g bzw. ml. Die Kotproben enthielten die meisten Keime, während das Eigelbpulver die niedrigsten Keimzahlen aufwies.
Bei einer "Flußwasserprobe", deren Keimzahl in der Größenordnung 10^8 liegt, handelt es sich um Wasser mit Abwasserqualität.
Von den Gefriertauwasserproben wurden, wie eingangs beschrieben, nur versuchsweise 10 Proben untersucht. Die Zahlen schwankten zwischen 30 und 765000 Keimen/-ml.

Probennummer	Keimzahl/ml
Flußwasser	
49	7840
50	12383
51	17217
54	31500
57	26000
58	41500000
61	5750
62	18883
63	55200
64	14700
65	59750
70	7880
71	21133
72	18050
Schlachtkühlwasser	
24	50750
25	83000
29	260
31	82400
32	145830
33	108000
34	82200
35	78500
36	50200
45	121167
46	156400
52	112667
53	140000
60	82166
66	92500
67	90667
68	112600
Hühnereier	Keimzahl/Ei
21	7750
22	5580
23	132500
28	210500
30	1680
47	2400
48	2250
59	132500

Tab. 6a Absolute Keimzahlen bei den einzelnen Untersuchungsproben

Probennummer	Keimzahl/g
Eigelbpulver	
39	13
40	5
41	5
42	33
43	34
44	11
73	14
74	15
75	38
76	29
77	18
83	40
84	60
85	10
86	1337,0
87	12
88	387
91	14
92	16
93	30
94	13
Federwaschflüssigkeit	**Keimzahl/ml**
26	4875000
27	1900000
37	1926000
38	916000
69	88800
Geflügelkot	**Keimzahl/g**
55	16375000
56	14350000
78	67225000
79	5895000
80	7575000
81	71250
82	39750
97	369150
98	1575000
99	291750
100	915000
101	2550000
102	8425000

Tab. 6b Absolute Keimzahlen bei den einzelnen Untersuchungsproben

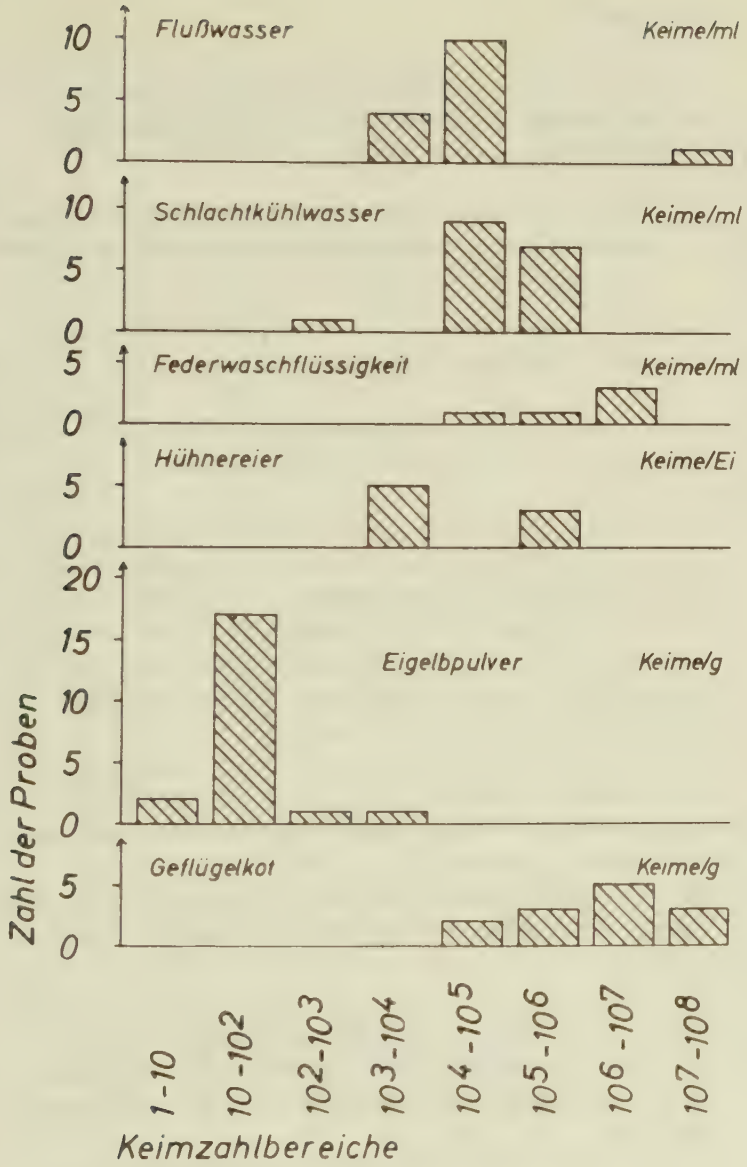

Abb. 19 Gesamtkeimzahlen der verschiedenen Untersuchungsproben (aufgeteilt in Zehnerpotenzgruppen)

D. Diskussion

I. Ein Indikatorbakterium für die gleichzeitige und vorhergehende Anwesenheit von Salmonellen sollte folgende Bedingungen erfüllen:

1. Große Wahrscheinlichkeit des gemeinsamen Auftretens mit den Salmonellen bei einer längeren Überlebensrate als diese.
2. Leichte und schnelle Anzüchtbarkeit sowie einfache Differenzierbarkeit.

II. 1. Die Tab. 7 zeigt die Ergebnisse aller Untersuchungen aufgeteilt nach Keimarten und Proben.

Das Vorkommen der einzelnen "Indikatoren" bei 16 salmonellapositiven und 58 salmonellanegativen Proben ist in Tab. 8 wiedergegeben. Es wurden nur Proben herangezogen, die je mindestens 2 der Indikatoren enthielten, da einige Proben weder Salmonellen noch eine der anderen Keimarten enthielten, und so zu einem Zerrbild geführt hätten.

Es zeigt sich, das Enterokokken und Pseudomonas aeruginosa nur in etwa jeder zweiten salmonellahaltigen Probe nachzuweisen waren. Sie sind deshalb als Salmonellaindikatoren weniger geeignet. Ihr Wert als Fäkalindikatoren wird dadurch nicht in Frage gestellt.

Einschränkend sei zu den Ergebnissen gesagt, daß Bakterienantagonismus und -synergismus (HABS und U. LANGELOH (26)) zu Keimzahlverschiebungen führen können.
G. MÜLLER (48) schreibt über die Bestimmung von

Keimarten / Art der Proben	Gesamtanzahl	Salmonellen	Salmonellaphagen	E.coli	coliforme Keime	D-Streptokokken	Pseudomonas aerug.
		pos.	pos.	pos.	pos.	pos.	pos.
Flußwasser	15	13	14	15	14	10	9
Gefriertauwasser	25	0	10	17	21	14	0
Schlachtkühlwasser	17	1	14	15	17	5	4
Eiwaschflüssigkeit	8	0	1	4	1	3	0
Eigelbpulveraufschw.	21	0	1	1	2	8	0
Federwaschflüssigkeit	5	0	5	4	5	3	2
Kotaufschwemmungen	13	2	8	13	12	6	3
Gesamtergebnis	104	16	53	69	72	49	18

Tab. 7 Ergebnisse aller Untersuchungen aufgeteilt nach Keimarten und Untersuchungsproben

E.coli- und Enterokokkenkeimzahlen: "... dabei war die Colikeimzahl stets höher als die Enterokokkenkeimzahl, sodaß letztere nur als Ergänzungsreaktion, nicht aber als Ersatz für den Colinachweis gelten kann."

	16 Salm+-Proben		58 Salm.-Proben	
	abs	%	abs	%
Salmonellaphagen	14	87,5	39	67,2
E.coli	16	100	52	89,8
Coliforme Keime	15	93,8	55	94,9
Enterokokken	9	56,2	28	48,2
Pseudomonas	7	43,7	10	17,5

Tab. 8 Verhalten der Indikatoren bei salmonellapositiven und salmonellanegativen Proben

Vergleicht man die verbleibenden Keimarten der Tab. 8 miteinander, so sind alle mindestens zu etwa 90 % gleichzeitig mit den Salmonellen vorhanden. In den salmonellafreien Proben ist der Anteil von E.coli und den coliformen Keimen nur wenig verändert, während immerhin 20 % weniger Salmonellaphagen enthalten sind. Mit zunehmender Spezifität der Anreicherungs-

und Testmethoden dürfte dieses Bild noch günstiger werden. Es zeigt sich aber jetzt schon eine engere Beziehung der Salmonellaphagen zu den Salmonellen.

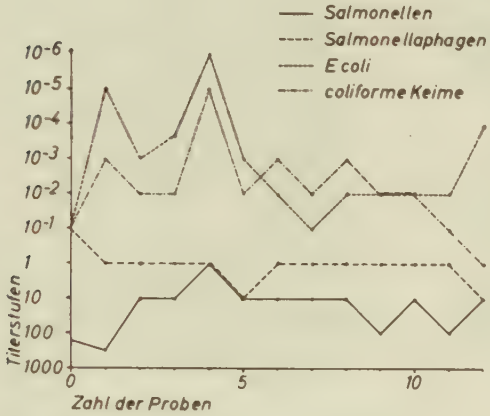

Abb. 22 Verhalten von Salmonella-, Phagen-, E.coli- und Coliformentiter

Die quantitativen Zusammenhänge von Salmonellen, Phagen, E.coli und "Coliformen" macht die Abb. 22 für die Proben deutlich, die alle diese Keimarten enthielten. Der Titer ist um einer anschaulichen Darstellung willen nach oben zu abnehmend dargestellt. Ein deutlicher Abstand der Salmonellen und Phagen einerseits und der Coli-Bakterien und "Coliformen" andererseits ist erkennbar.

Die Abb. 23 zeigt bei der Gegenüberstellung von Phagen und den einzelnen "Indikatorbakterien" die stärkere Abhängigkeit der Salmonellaphagen von den Salmonellen. Die Salmonellakonzentration ist im Anfangsteil jeder Säule mitangegeben. Es ist immerhin in 4 von 16 Proben zu einer Übereinstimmung von

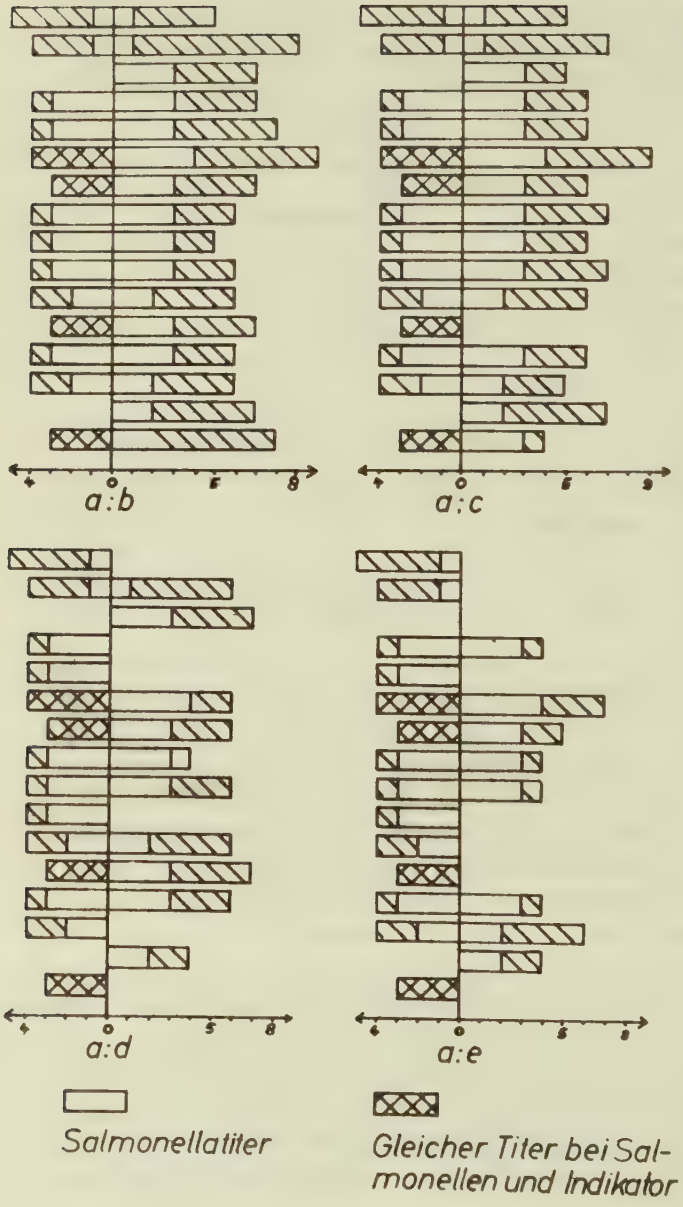

Abb. 23 Gegenüberstellung der Salmonellaphagen und der übrigen Indikatoren bei salmonellapositiven Proben
(a = Salmonellaphagen; b = E.coli; c = "Coliforme Keime"; d = D-Streptokokken; e = Pseudomonas)

Phagen und Salmonellakonzentration gekommen. Für die Enterokokken und Pseudomonas ergibt sich ein ähnliches Bild wie oben bereits beschrieben. Ihre Anzeigefähigkeit ist zu unspezifisch.

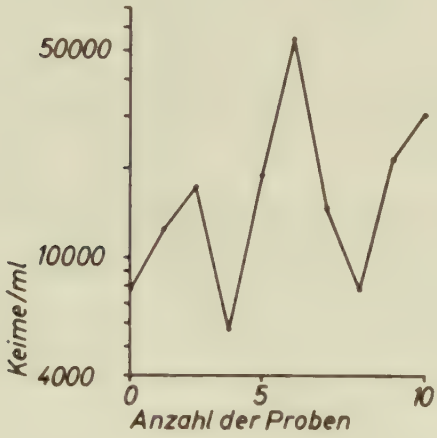

Abb. 24 Verhalten der Keimzahlen bei einem Salmonellentiter 10

Abb. 24 zeigt das Verhalten der Gesamtkeimzahlen bei 10 verschiedenen salmonellapositiven Proben, die sämtlich den Titer 10 haben. Ein Zusammenhang besteht, wie erwartet, nicht.

SEIDEL und SCHULZ (55) sowie WOODBURN (63) haben bei Untersuchungen von salmonellahaltigem Eigelbpulver bzw. Hühnern die gleichen Feststellungen gemacht.

Eine andere Möglichkeit, die Beziehung der Indikatorbakterien zu den Salmonellen darzustellen, ist die

Häufigkeit der Titerstufen für die einzelnen Keimarten aufzuzeigen.
Abb. 25 gibt für alle "Nachweiskeime" eine Rechtsverschiebung gegenüber den Salmonellen wieder. Die Proben waren also immer stärker mit den "Indikatoren" kontaminiert, als mit Salmonellen. Dabei ist der Abstand der Salmonellaphagen am geringsten. Dies zeigen besonders deutlich die rechnerisch ermittelten Titerdurchschnittswerte, die als kleine schwarze Dreiecke angegeben sind.

STURDZA und RUSSU-PANDELESCU (60) erkennen den Wert des Bakteriophagennachweises an. Die Anwesenheit von Coliphagen sei allerdings ein zu empfindliches Kriterium, da diese schon bei der geringsten Verunreinigung zu finden sind, eine Tatsache, die aus den oben gezeigten häufigen Colifunden durchaus erklärlich ist.

Auch LENK (38) stellt 1966 im Vergleich des Phagen- und Colinachweises fest: "Dieser (der Colinachweis!) war viel häufiger positiv, als nach dem Vorkommen von Salmonellen zu erwarten gewesen wäre." Eine Gleichsinnigkeit des Coli- und Phagennachweises konnte er in größerem Umfange nicht feststellen.

WOODBURN (63) fand in Bezug auf die Gesamtkeimzahl, die "Coliformen" und die D-Streptokokken bei der Untersuchung von Schlachthühnern keinen signifikanten Unterschied zwischen Tieren, die Salmonellen enthielten und denen, die salmonellafrei waren.

SEELIGER (54) konnte in 6 von 18 Lebensmittelproben trotz einwandfreien Salmonellanachweises weder E.coli noch"Coliforme"isolieren.

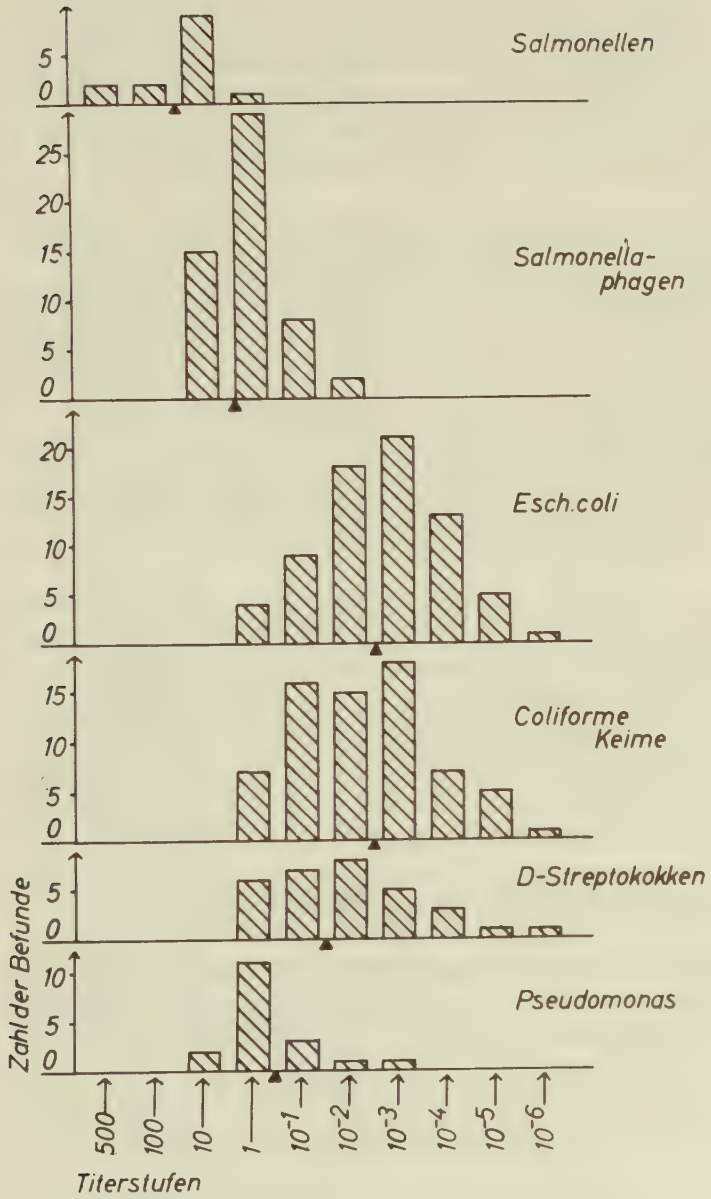

Abb. 25 Häufigkeit der Titerstufen von Salmonella, Salmonellaphagen und den übrigen Indikatoren (zeigt die Durchschnittstiterwerte an)

Über die Einflüsse von Milieu und Umwelt auf die einzelnen Indikatorkeime herrschen die verschiedensten Auffassungen. Bei E.coli und Enterokokken beispielsweise sind von der Möglichkeit des langen Überlebens der Colikeime (25) über eine etwa gleiche Lebensdauer (35) bis zum langen Überleben der Enterokokken (4) alle Ansichten vertreten.

Fest steht, daß sich bei günstigen Bedingungen mit Einschränkungen alle üblichen Indikatorbakterien vermehren können. Das ist für E.coli, "Coliforme", Enterokokken und Pseudomonas abgesehen von synergistischen und antagonistischen Vorgängen in erster Linie ein Problem der Ernährung. Beispielsweise können sich in Milch, Fleischwaren und anderen Medien Bakterien so gut vermehren (36, 11), daß es zu Zerrbildern über den bakteriologischen Zustand der Proben kommen muß.

Wenn auch von einigen Autoren (36, 1) und in den eigenen Untersuchungen gezeigt werden konnte, daß auch Nichtsalmonellabakterien in gewissem Grade Salmonellaphagen anreichern können, so besteht doch schon aus bakterio-physiologischen Gründen hinsichtlich der Vermehrung der Salmonellaphagen eine sehr enge Beziehung zu den Salmonellen. Es wird also bei noch so günstigen Umweltbedingungen, bei der Abwesenheit von Salmonellen zu einer geringeren Zunahme der Phagen gegenüber den übrigen Indikatoren kommen.

Ebenso wie sich günstige Umweltbedingungen bei den entsprechenden Voraussetzungen (An- oder Abwesenheit von Wirtsbakterien etc.) verschieden auf das Bakterienwachstum auswirken können, ist auch bei schädigenden Einflüssen ein unterschiedliches Verhalten der Bakterien denkbar. Beispielsweise konnte

LENK (38) zeigen, daß Abwasser, welches während der Sommermonate gechlort wird, häufig frei von E.coli war, während Phagen immer nachzuweisen waren. "Ein gechlortes Abwasser wird daher mit Hilfe des Phagennachweises auch dann noch als Abwasser identifiziert werden können, wenn andere bakteriologische Verfahren versagen müssen."

FAVERO, DRAKE und RANDALL (15) haben ähnliche Erfahrungen mit der Chlorempfindlichkeit der herkömmlichen Indikatorkeime gemacht und schlagen für die Wasseruntersuchung in Schwimmbädern den zusätzlichen Nachweis von Staphylokokken vor.

R. MEYER (43, 44) hat bei natürlichen Wasservorkommen eine stark abtötende Wirkung auf eingeimpfte Salmonellen feststellen können. Der "Salmonellaquotient" als Maß dieser abtötenden Wirkung ergibt sich aus der Einsaatmenge und der Salmonellakeimzahl nach 24 Stunden.
Bedenkt man, daß das Auftreten von E.coli, den "Coliformen" etc., den gebräuchlichen Salmonellaindikatoren also, durchaus nicht zwangsläufig an das der Salmonellen gebunden ist, dann sind gerade Untersuchungen wie die von MEYER positiv zu bewerten. Ihr Vorteil liegt darin, daß sie sich direkt am nachzuweisenden Keim, den Salmonellen, orientieren.

2. Für die Arbeitstechnik beim Phagennachweis ist im Vergleich zum Nachweis der herkömmlichen Indikatorbakterien kein außergewöhnlicher Mehraufwand erforderlich. Eine Standardisierung der Untersuchungsmethoden wäre wünschenswert.

KAMPELMACHER (33) konnte allerdings feststellen, daß

trotz Standardisierung die Qualität der einzelnen Laboratorien eine entscheidende Rolle spielt. Er mußte aber eingestehen, daß das fachmännische Vorgehen durch die Standardisierung günstig beeinflußt wird.

Das Problem des Phagennachweises liegt, wie verschiedene Autoren (1, 24, 31, 36) zeigen konnten, in der Auswahl der Test- und Anreicherungsmedien. Die vorliegenden Untersuchungen sowie die Arbeiten von GUELIN (24), HUDEMANN (31), LENK (36) und anderen zeigen, daß die verwendeten Test- und Anreicherungsstämme schon zu einer auffallenden Selektion der Phagen führen. Es ist aber wahrscheinlich, daß mit zunehmender Spezifität der Anreicherungsmethoden die Ergebnisse noch günstiger werden, zumal durchaus umstritten ist, ob nicht spezielle Selektivnährböden beim Nachweis der üblichen "Indikatorbakterien" zu Keimzahlverschiebungen führen.

MASSIDA und MOLLE (40) haben an Hand von 121 Enterokokkenstämmen aus Lebensmitteln feststellen können, daß diese sich bei den allgemein zur genauen Identifikation der D-Streptokokken (Enterokokken) benutzten Tests sehr verschieden verhielten. Die Autoren bezweifeln Gültigkeit und Wert der benutzten Kriterien.

Was die Schnelligkeit des Phagennachweises angeht, so hat LENK (36) zeigen können, daß unter Einhaltung eines bestimmten Untersuchungsganges schon 24 - 30 Stunden nach Probeentnahme der Nachweis von Salmonellaphagen erbracht werden kann. Beim Nachweis von E.coli kann frühestens nach 2 Tagen mit einem genauen Befund gerechnet werden.

Die vorliegenden Untersuchungen haben gezeigt, daß der Nachweis von Salmonellaphagen in der bakteriologischen Untersuchungstechnik seine Berechtigung hat und daß er in der Lage ist, das Vorhandensein von Salmonellen spezifischer anzuzeigen als dies die herkömmlichen Indikatorbakterien tun.

E. Zusammenfassung

Es wird eine Methode zur Gewinnung einer teilchenfreien Mittelfraktion nach Zentrifugation von Eipulveraufschwemmungen angegeben.

Insgesamt 104 Proben von Flußwasser und verschiedenen Geflügelprodukten wurden auf das Vorhandensein von Salmonellen, Salmonellaphagen, E.coli, coliformen Keimen, Enterokokken, Pseudomonas und Gesamtkeimzahlen untersucht.

Es wurde festgestellt, daß die Salmonellaphagen das vorkommen von Salmonellen spezifischer anzuzeigen vermögen als die üblichen Indikatoren. Die Untersuchung auf Salmonellaphagen ist ohne großen zeitlichen Mehraufwand in der bakteriologischen Untersuchungstechnik durchführbar.

Enterokokken und Pseudomonas weisen nicht in gleichem Maße auf die Anwesenheit von Salmonellen hin.

Für E.coli und die coliformen Bakterien werden Keimzahlen angegeben, die analog dem Verfahren der "Most Probable Number" (MPN) ermittelt wurden.

F. Schrifttum

1. H.-W. ACKERMANN

Untersuchungen über die Züchtung und Bestimmung von Typhus-Vi-Phagen aus Abwasser. Inaug. Diss. Med. Fak. d. Freien Universität Berlin (1962)

2. ANONYM

Computing and Recording the Most Probable Number.
Standard Methods for the Examination of Water, Sewage and Industrial Wastes. Am. Pbl. Hlth. Ass., S. 383 (1955)

3. ANONYM

Verordnung zum Schutze gegen Infektion durch Erreger der Salmonella-Gruppe in Eiprodukten. Lebensmittelgesetze II, 133, Goldmanns gelbe Taschenbücher, Wilhelm Goldmann Verlag, München

4. E. BALTEANU, L. ALDEA, M. FINICHIU und S. FREUND

Beiträge zum Enterokokkenstudium als Hygieneanzeiger in verschiedenen Wasserquellen. Igiena (Buc) 14, 679 (1965). Ref: Zbl. Bakt. I Ref. 205, 341 (1967)

5. J. BISCHOFF

Ohne Titel.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 70, 111 (1957). Zit. bei 34).

6. A. BITZU, M. ANTONESCU, V. MOROSANU und V. HURJUI

Enterokokken als Anzeiger der hygienischen Verhältnisse in Betrieben zur Pulvermilch-Erzeugung.
Igiena (Buc) 14, 687 (1965). Ref: Zbl. Bakt. I Ref. 205, 309 (1967)

7. E. BULLING und O. PIETSCH

Salmonellabakterien in Schlachtgeflügel.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 79, 132 (1966)

8. M. K. BURKWALL and P. A. HARTMANN

Comparison of Direct Plating Media for the Isolation and Enumeration of Enterococci in Certain Frozen Foods.
Appl. Microbiol. 12, 18 (1964)

9. M. O. BURTON

Comparison of Coliform and Enterococcus Organisms as Indices of Pollution in Frozen Foods.
Food Research 14, 434 (1949)

10. O. J. COETZEE

Bakteriophagen als Indikator fäkaler Wasserverunreinigung.
Wes. Ing. 83, 371 (1962)

11. O. J. COETZEE

-Coliform Index- its Use and Limitations.
Pbl. Hlth. 158 (1962). Zit. bei LENK (51).

12. A. DAIGELER

Über das Vorkommen von Salmonellen bei Hühnern.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 70, 305 (1957)

13. H. DRÄGER

Entstehung und Verhütung von Lebensmittelvergiftungen durch Salmonellabakterien.
VEB Gustav Fischer, Jena (1958)

14. M. EKSTAM

Skållvatten, en infektionskvälla
(Brühwasser als Infektionsquelle)
Medlemsbl. sveriges vet. förb. 1963, 285.
Ref: Zbl. Bakt. I Ref. 192, 655 (1964)

15. M. S. FAVERO, CH. H. DRAKE und G. B. RANDALL

Die Verwendung von Staphylokokken als Indikator für Schwimmbadverunreinigungen.
Pbl. Hlth. Rep. 79, 1, 61 (1964)

16. G. FEILS

Seltene Salmonellatypen beim Geflügel unter Berücksichtigung der Pullorumuntersuchungen.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 70, 308 (1957)

17. Y. GANDON

Salmonellen in französischen und nicht-franz. Eiern und Eiprodukten.
Ann. Inst. Pasteur 104, 584 (1963). Ref: Zbl. Bakt. I Ref. 192

18. W. P. GLEZEN, M. P. HINES, M. KERBAUGH, M. E. GREEN and J. KOORNEN jr.

Salmonella in Two Poultry Processing Plants.
J. Am. Vet. Med. Ass. 148, 550 (1966).
Ref: Zbl. Bakt. I Ref. 207, 177 (1967)

19. D. GROßKLAUS und G. LESSING

(Ohne Titel)
Fleischwirtschaft 12, 1253 (1964)

20. D. GROßKLAUS

Weitere Untersuchungen zur Frage der Eiswasserkühlung des Schlachtgeflügels.
Fleischwirtschaft 1, 53 (1966)

21. D. GROßKLAUS und J. NEUSCHULZ

Weitere Untersuchungen zur Frage der Eiswasserkühlung des Schlachtgeflügels.
Arch. Lebensmittelhyg. 17, 33 (1966)

22. D. GROßKLAUS und R. LEVETZOW

Sterben Salmonellabakterien im Fleisch von Hasen und Hähnchen beim Braten bzw. Grillen ab?
Fleischwirtschaft 47, 114 (1967)

23. A. GUÉLIN

Sur le choix des souches étalons pour la détection du bacille typhique dans les eaux par la recherche des bakteriophages spécifiques.
Ann. Inst. Pasteur 79, 186 (1950)

24. A. GUELIN

Application de la recherche des bactériophages à l'étude des eaux polluées.
Ann. Inst. Pasteur 82, 78 (1952)

25. O. GUTHOFF und G. DAMMANN

Über die Brauchbarkeit von Enterokokken zur Beurteilung von Trink- und Oberflächenwasser.
Arch. Hyg. 142, 7 (1958)

26. H. HABS und U. LANGELOH

Versuche über den Antagonismus zwischen E.coli und E.freundii bei bakteriologischen Trinkwasseruntersuchungen.
Arch. Hyg. 144, 277 (1960)

27. G. HENNEBERG und E. M. MÜLLER

Über die Chemotherapieresistenz des Pseudomonas aeruginosa.
Zbl. Bakt. I Orig. 161, 183 (1954)

28. R. W. HENNINGSON

Coliform Counts as an Index of the Sanitary Quality of Raw Milk.
J. Dairy Science 44, 970 (1961)

29. P. HILBRICH

Seltene Salmonellatypen bei Geflügel.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 70, 684 (1963)

30. P. HOFMANN, F. HÖRCHNER und R. WOLLE-JOHN

Einschleppung seltener Salmonellen durch importierte Geflügelfedern.
Zbl. Bakt. I Orig. 178, 484 (1960)

31. H. HUDEMANN

Zur Bedeutung von Typhus-Vi- und Salmonellaphagen in Lebensmitteln.
Arch. Hyg. 143, 495 (1959)

32. H. HUDEMANN

Fundorte und Bedeutung von Typhus-Vi-Phagen in der Natur.
Zbl. Bakt. I Orig. 181, 234 (1961)

33. E. H. KAMPELMACHER

Comparative Studies into the Isolation of Salmonella from Minced Meat in Five Laboratories.
Zbl. Bakt. I Orig. 204, 100 (1967)

34. C. B. KELLY and W. ARCISZ

(Ohne Titel)
Pbl. Hlth. Rep., Wash. 69, 1205 (1954).
Zit. bei 3).

35. H. KRUSE

Die Durchführung der bakteriologischen Wasseruntersuchung in den verschiedenen Staaten der Erde.
GWF 101, 497 (1960)

36. V. LENK

Untersuchungen über die bakteriologische Beschaffenheit von Abwasser, Oberflächenwasser und Lebensmittelproben, unter besonderer Berücksichtigung des Nachweises von Salmonellaphagen sowie deren hygienischer Bedeutung.
Habilitationsschrift Med. Fak. d. Freien Universität Berlin (1963)

37. V. LENK

Bakteriologische Wasseruntersuchungen und Bewertung von Indikatorbakterien.
Ges. Ing. 85, 367 (1964)

38. V. LENK

Über die Bedeutung des Nachweises von Salmonellaphagen und Escherichia coli als Indikatoren für das Vorkommen von Salmonellabakterien.
Zbl. Bakt. I Orig. 200, 353 (1966)

39. K. MARCUSE, B. HENZE, H. D. POHLE

Das Vorkommen von Salmonellen in Westberlin.
Zbl. Bakt. I Orig. 169, 493 (1957)

40. A. MASSIDA und A. MOLLE

Enterococci in alimenti (Enterokokken in Nahrungsmitteln)
Boll. Ist. sieroter, milano 43, 384 (1964)

41. J. H. MCCLOY

The Safety and Cleanliness of Water and Foods.
J. Appl. Bact. 24, 365 (1961)

42. M. H. MCCRADY

The Numerical Interpretation of Fermentation-Tube Results.
J. Infect. Dis. 17, 183 (1915)

43. R. MEYER

Zur Einführung des Salmonellaquotienten in die bakteriologische Wasseruntersuchung.
Arch. Hyg. 143, 221 (1959)

44. R. MEYER

Zur Wasseruntersuchung mit Salmonellen als Indikatorbakterien.
Ges. Ing. 83, 6, 163 (1962)

45. G. K. MORRIS and Co-workers

Salmonellae in Broilers Traces to Hens and Feed.
Pbl. Hlth. Rep. 83, 233 (1968)

46. A. A. MOSSEL

Die Verhütung der Verbreitung von Salmonellosen und anderen Enterobakteriosen durch Lebensmittel.
Zbl. Bakt. I Ref. 166, 421 (1958)

47. A. A. MOSSEL

Das Überleben von Salmonellen in verschiedenen Nahrungsmitteln.
Ann. Inst. Pasteur 104, 551 (1963)

48. G. MÜLLER

Der Enterokokkennachweis bei bakteriologischen Wasseruntersuchungen.
Zbl. Bakt. I Orig. 182, 318 (1961)

49. C. NYBERG

Über Nachweis und Gewinnung von Bakteriophagen.
Zbl. Bakt. I Orig. 122, 270 (1931)

50. C. PIENING und H. WERMERSSEN

Nochmals: Salmonellafunde in einer Importsendung amerikanischer Tiefgefrierhühner.
Arch. Lebensmittelhyg. 14, 103 (1963)

51. H. G. RACKOW und W. WELZ

Salmonellafunde in einer Importsendung amerikanischer Tiefgefrierhühner.
Arch. Lebensmittelhyg. 14, 49 (1963)

52. H.-D. SCHOLZ

Beobachtungen zur Salmonellose des Geflügels.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 71, 98 (1964)

53. J. SEDLAK

Über die Eigenschaften und Bedeutung der Stämme der Citrobacter-(E.freundii-Ballerup-Bethesda)Gruppe.
Zbl. Bakt. I Orig. 168, 10 (1957)

54. H. P. R. SEELIGER

Zur Bedeutung coliformer Keime (einschließlich der sog. Paracolibakterien) in Lebens- und Futtermitteln.
Tierärztl. Umsch. 1958, 317

55. G. SEIDEL und CH. SCHULZ

Weitere Erfahrungen bei der Untersuchung von Eiprodukten.
Arch. Lebensmittelhyg. 13, 12 (1962)

56. F. SELENKA

Der quantitative Nachweis von Pseudomonas aeruginosa im Oberflächenwasser.
Arch. Hyg. 144, 627 (1960)

57. L. W. SLANETZ und C. H. BARTLEY

Detection and Sanitary Significance of Fecal Streptococci in Water.
Am. J. Pbl. Hlth. 54, 609 (1964)

58. L. W. SLANETZ and Associates

Detecting Salmonella Count in Seawater and Shellfish.
Pbl. Hlth. Rep. 83, 232 (1968)

59. S. A. STURDZA

Proteuszahlbestimmungen in Schmutzwässern.
Städtehygiene 13, 9, 180 (1962)

60. S. A. STURDZA und M. RUSSU-PANDELESCU

Über die Bedeutung des Bakteriophagennachweises bei Gewässeruntersuchungen.
Städtehygiene 9, 81 (1958)

61. J. W. WALKER

Minimum Salmonellalevel For Animal Feed Needed.
Pbl. Hlth. Rep. 83, 231 (1968)

62. S. WINKLE, R. ROHDE und J. BISCHOFF

Kritische Stellungnahme zu einem Gutachten gegen den Erlaß der "Verordnung zum Schutze gegen Infektionen durch Erreger der Salmonellagruppe in Eiprodukten"
Münch. Med. Wschr. 99, 21, 768 (1957)

63. M. WOODBURN

Indicence of Salmonellae in Dressed Broiler-Fryer Chickens.
Appl. Microbiol. 12, 492 (1964)

64. H. WORATZ und R. WOHLRAB

Die Zunahme von Pseudomonas aeruginosa (Bact. pyoceanum) im Einsendematerial des Medizinal-untersuchungsamtes Hannover.
Ges. u. Des. 55, 1, 1 (1963)

Herrn Prof. Dr. med. Volker Lenk möchte ich an dieser Stelle für die Uberlassung des Themas und seine stets bereitwillige Unterstützung beim Abfassen der Arbeit herzlich danken.

Ebenso sei Fräulein Erika Brandt, die mir bei der serologischen Ausdifferenzierung der Salmonellen behilflich war, gedankt.

Lebenslauf

Am 17. März 1939 wurde ich als erster Sohn des Ingenieurs Wilhelm Ohlrogge und seiner Ehefrau Ilse, geb. Prätorius, in Berlin geboren.

Nach dem Besuch der Volksschulen in Uelzen und Erlangen sowie der Ohm-Oberrealschule in Erlangen kam ich im Frühjahr 1958 an die Carl-Friedrich-von-Siemens-Schule in Berlin-Spandau. Dort bestand ich im Februar 1961 die Reifeprüfung.

Mit dem Sommersemester 1961 begann ich das Studium der Zahnmedizin an der Freien Universität Berlin. Im Frühjahr 1964 machte ich dort das Physikum, im März 1967 bestand ich das Staatsexamen.

Seit dieser Zeit bin ich bei dem Zahnarzt Dr. Klaus-Peter Moeller in Berlin als Assistent tätig.